

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عبد الحميد ابن باديس - مستغانم

UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS DE MOSTAGANEM



UNIVERSITE
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Sciences du Sol et Environnement



UNIVERSITE
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME

DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par :

Mr GHAMNIA Youcef

Thème

Phytoextraction de cuivre par l'*Atriplex* dans un milieu salin

Laboratoire de biodiversité et conservation des eaux et des sols, Université de Mostaganem

Soutenue publiquement le : 14 juillet 2019

Devant les membres de jury :

Président	M. CHIBANI Abdelwaheb	Professeur à l'université de Mostaganem
Encadreur	M. REGUIEG YSSAAD Houcine Abdelhakim	Professeur à l'université de Mostaganem
Co-Encadreur	M. BELKHODJA Moulay	Professeur à l'université d'Oran 1
Examineur	M. MEHDADI Zouheir	Professeur à l'université de Sidi Belabes
Examineur	M. LATRECHE Ali	Professeur à l'université de Sidi Belabes
Examineur	M. MEKHALDI Abdelkader	Professeur à l'université de Mostaganem

Année universitaire : 2018 /2019

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A ma très chère mère

A celui à qui je dois ce que je suis

Mon cher père

Pour son amour, sa patience et ces sacrifices

*A ma femme pour sa compréhension et son soutien sans
faillir*

A mes chères enfants Abdallah, Sara et Wiam

A mon encadreur : Reguieg Yssaad H.A

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la
réalisation de se travail*

Ghamnia Youcef

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de biodiversité et conservation des eaux et des sols, (ex L'INES) de l'Université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem, dirigé par le **Professeur Reguieg Yssaad Houcine Abdelhakim**. Je tiens à exprimer ma reconnaissance pour avoir accepté la charge d'être rapporteur de ma thèse, pour avoir consacré du temps pour la correction de ce travail et pour ses conseils importants et pertinents donnés toute au cours de la réalisation de ce travail et surtout pour m'avoir fait confiances et m'avoir accepté dans son laboratoire.

J'exprime mes profonds remerciements à monsieur le **Professeur Belkhodja Moulay** Co-Encadreur de thèse, pour l'aide compétente qu'elle m'a apportée, pour sa patience et son encouragement. Son œil critique m'a été très précieux pour structurer le travail et pour améliorer la qualité de cette thèse.

Je suis profondément reconnaissante envers tous les membres du jury qui ont accepté gentiment de juger ce travail avec une très grande disponibilité :

Je remercie **Monsieur CHIBANI Abdelwaheb**, Professeur à l'Université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem d'avoir aimablement accepté de présider ce jury; qu'il me soit permis de lui témoigner mon sincère et profond respect,

Je tiens également à remercier Monsieur. **MEHDADI Zouheir** Professeur à l'Université de Djilali Liabess (Sidi Belabes) de nous avoir honoré par l'acceptation de juger ce travail ; qu'il trouve ici mon profond respect.

Je tiens à remercier Monsieur **LATRECHE Ali**, Professeur a l'Université de Djilali Liabess (Sidi Belabes) d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail.

Je tiens également à remercier Monsieur **MEKHALDI Abdelkader** Professeur à l'Université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem de nous avoir honoré par l'acceptation de juger ce travail ; qu'il trouve ici mon profond respect.

Enfin, je vais maintenant remercier toutes les personnes ayant participé à la thèse de près ou de loin. Un merci à toute l'équipe de notre laboratoire.

Résumé

L'*Atriplex* constitue une réserve fourragère importante, elle est capable d'accumuler de grande quantité de sel dans ces tissus, elle est intéressante pour la dépollution des métaux lourds dans les sols. Le cuivre est un oligoélément indispensable pour les plantes grâce à son rôle important dans la photosynthèse, la respiration comme coenzyme, mais il est considéré comme un métal toxique quand il se trouve à des concentrations élevées.

Cette étude porte sur la phytoextraction du cuivre par l'*Atriplex canescens* dans un milieu salin, les concentrations 0.5 et 3 % de (NaCl) combinées avec (0,2000, 2500 et 3000 ppm du cuivre) sont appliquées pendant un mois de stress. La réponse de la plante au sel combiné avec le cuivre est très complexe ce qui implique des processus permettant de limiter l'accès et l'effet toxique du NaCl et Cu au niveau des feuilles et des racines par des mécanismes de perception et des réponses cellulaires.

Les résultats obtenus ont montré que l'addition du NaCl combiné avec le cuivre en l'occurrence, varie d'un paramètre à un autre. Il a été enregistré également que les stress salin et métallique ont entraîné des perturbations biométriques affectant les racines, les tiges, les feuilles et le système hydrique de la plante .

Pour les paramètres biochimiques, il a été enregistré également que les stress salin et métallique ont entraîné des diminutions significatives de la teneur en chlorophylle «a», «b» »a+b». Les résultats montrent que l'augmentation de la concentration de NaCl combiné avec le cuivre augmentent la synthèse et l'accumulation des bioindicateurs de stress (proline et sucre soluble) suivie par des dégradations des protéines au niveau des feuilles et des racines, ce qui est un indice de tolérance à la salinité et les métaux lourds, les teneurs les plus élevées de ces bioindicateurs sont enregistrées dans les feuilles des plantes qui reçoivent 3 % de NaCl combinée avec 2500 et 3000 ppm du cuivre.

L'analyse des antioxydants au niveau des feuilles de l'*Atriplex canescens*, est marquée par une augmentation des taux de polyphénols et flavonoïdes sous l'action de 0.5 et 3% de NaCl combiné avec 2500 et 3000 ppm du cuivre. Les teneurs plus élevées de polyphénols et flavonoïdes (178. mg. g⁻¹ de poids sec et 173 mg. g⁻¹ poids

sec respectivement) sont obtenues à la dose de 3000 ppm de cuivre combiné avec 3% de NaCl.

La phytoextraction par l'*Atriplex canescens* possède un important pouvoir d'accumulation des métaux et des cations (Na^+ , K^+) dans les feuilles et les racines (partie souterraine). Cette plante a montré une grande résistance à la salinité combinée avec le cuivre manifestée par le développement d'un appareil aérien et racinaire important, elle accumule significativement Na^+ , K^+ . Les résultats acquis ont confirmé la tolérance de l'*Atriplex canescens* aux concentrations du cuivre, l'accumulation de ce métal est plus élevée dans les feuilles que dans les racines. Enfin, on constate que l'*Atriplex canescens* possède des mécanismes qui lui permettent de tolérer l'excès 3 % de NaCl combiné avec 3000 ppm du cuivre.

Les Mots clés : phytoextraction, *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt, cuivre, salinité, , RWC,RWL, proline ,sucres solubles ,protéines, antioxydant, Na^+ , K^+ , Cu

Abstract

The Atriplex is an important forage reserve, it is able to accumulate large amounts of salt in these tissues, it is interesting for the clean-up of heavy metals in soils. Copper is an indispensable trace element for plants thanks to its important role in photosynthesis, breathing as a coenzyme, but it is considered a toxic metal when it is found at high concentrations.

This study examines the phytoextraction of copper by *Atriplex canescens* in a saline medium, the concentrations 0.5 and 3% of (NaCl) combined with (0, 2000, 2500, and 3000 ppm copper) are applied during one month of stress. The response of the plant to salt combined with copper is very complex, which implies processes that limit the access and toxic effect of NaCl and Cu at the leaf and root level by mechanisms of perception and cellular responses. The results obtained showed that the addition of NaCl combined with copper in this case varies from one parameter to another. It has also been recorded that salt and metal stress have resulted in biometric disturbances affecting roots, stems, leaves and the plant's water system.

For biochemical parameters, it was also recorded that salt and metal stress resulted in significant decreases in chlorophyll «a», «b» «a+b». The results show that the increase in the concentration of NaCl combined with copper increases the synthesis and accumulation of stress Bioindicators (proline and soluble sugar) followed by protein degradation at the leaf and root levels, This is an index of tolerance to salinity and heavy metals, the highest levels of these Bioindicators are recorded in the leaves of plants that receive 2500 and 3000 ppm of copper combined with 3% NaCl. The analysis of antioxidants at the leaf level of the *Atriplex canescens* is marked by an increase in the levels of polyphenols and flavonoids under the action of 0.5 and 3% copper NaCl with 2500 and 3000 ppm copper. Higher levels of polyphenols and flavonoids (178 mg. g⁻¹ dry weights and 173 mg. g⁻¹ dry weights respectively) are obtained at a dose of 3000 ppm copper combined with 3% NaCl.

Phytoextraction by *Atriplex canescens* has an important power to accumulate metals in the leaves (aerial part) and roots (underground part). This plant showed a high resistance to salinity combined with copper shown by the development of an important aerial and root apparatus, it accumulates significantly Na⁺, K⁺. The results obtained confirmed, the tolerance of the *Atriplex canescens* to the copper concentrations, the accumulation of this metal, is higher in the leaves than in the roots. Finally, the *Atriplex canescens* has mechanisms that allow it to tolerate excess 3% NaCl combined with 3000 ppm copper.

Key words: phytoextraction, *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt, Copper, salinity, , RWC,RWL, Proline ,sugars soluble ,proteins, antioxidant, Na⁺ ,K⁺ , Cu⁺⁺

المُلخَص

يمتلك نبات القطف (*Atriplex canescens*) قدرة هائلة على تخزين الاملاح في انسجته ، فهو مهم من اجل معالجة التربة من المعادن الثقيلة من بينها النحاس الذي اثر كبير على لا يمكن الاستغناء عنه في عملية التركيب الضوئي و كذلك التنفس كمساعد انزيم و هذا عما يتواجد في الوسط بنسب ضئيلة .لكن تتزايد قدرته السمية على النباتات عندا يزداد تركيزه في الاوساط الترابية.

و عليه تمثلت هذه الدراسة في المعالجة النباتية لنبات القطف من تأثير النحاس في وسط ملحي ، حيث استبتنا نبات القطف (*Atriplex canescens*) بعد زرعه مدة 06 أشهر في اوساط مختلطة و مختلفة التراكيز 0.5 و 3 % من كلوريد الصوديوم مع 2000 ، 2500 و 3000 جزء من المليون من النحاس لمدة شهر . استجابة النبات لهذا الإجهاد الملحي و المعدني تمثلت في الحد من تأثير سمية عنصر النحاس و كلوريد الصوديوم سواء على مستوى الأوراق أو الجذور و السيقان بأليات و استجابات مختلفة على مستوى النبات بصفة عامة و على المستوى النسيجي و الخلوي بصفة خاصة

بينت النتائج أن التأثير المختلط للنحاس و كلوريد الصوديوم متغير من عامل إلى آخر حيث سجلنا تغير طفيف في طول السيقان و اختزال في المساحة الورقية بالإضافة إلى الزيادة في حجم الجذور النباتات الخاضعة لهذا الإجهاد ، كما سجلنا كذلك تغيرات في المحتوي المائي و نسبة تبخر الماء عند أوراق نبات القطف حيث كانت النتائج متباينة خاصة عند الأوساط المسقية ب 0.5 و 3 % من كلوريد الصوديوم المختلط مع 3000 جزء من النحاس .

فيما يخص العوامل البيوكيميائية سجلنا تغير كبير في كمية اليخضور الخام و اليخضور أ و ب حيث كلما زاد تركيز الأوساط من الملح و النحاس إنخفضت كميتهم، كما بينت النتائج المحصل عليها تراكم كبير لكل من البر و لين و السكريات على مستوى الأوراق و الجذور إلى أن هذه الكمية كانت اكبر في الأوراق بالمقارنة مع الجذور على عكس هذه النتائج لاحظنا انخفاض في كمية البروتينات مما يدل على هدمها حيث سجلت القياسات الأدنى عند النباتات المسقية ب 0.5 و 3 % من كلوريد النحاس مع 3000 جزء من المليون من النحاس . كما بينت النتائج كذلك ارتفاع و تراكم لمضادات الأكسدة (البوليفينولات و الفلافونويدات) على مستوى الأوراق بالمقارنة مع الجذور خاصة عند التراكيز 0.5 و 3 % من كلوريد النحاس مع 2500 و 3000 جزء من المليون من النحاس إذ وصل الارتفاع إلى حدود (178 و 173 ملغ/غ من الوزن الجاف للأوراق) عند التركيز 3 % من كلوريد النحاس مع 3000 جزء من المليون من النحاس على التوالي.

في الأخير أظهرت النتائج معالجة فعالة لنبات القطف للعناصر المعدنية (الصوديوم ، البوتاسيوم و النحاس) حيث تراكمت كميتهم بنسبة اكبر في الأوراق بالمقارنة مع الجذور مما يثبت مقاومة و تأقلم كبيرين لهذا النبات لهذه الظروف من الإجهاد و التي وصلت الى حدود 30 غرام في الترم من كلوريد الصوديوم مع 3000 جزء من المليون من النحاس.

الكلمات المفتاحية : النحاس ، الملوحة ، القطف ، البرولين ، السكريات المنحلة ، البروتينات ، العناصر المعدنية و مضادات الأكسدة (الفلافونويد ، البوليفينول ، K^+ ، Na^+ ، Cu)

TABLE DES MATIERES

Dédicace		i
Remerciement		v
Résumé		iv
Abstract		viii
الملخص		ix
Liste des tableaux		x
Liste des figures		xi
Liste des abréviations		xii

		Page
INTRODUCTION GENERALE		1
Première partie : synthèse bibliographiques		
Chapitre I : Salinité des sols et stress		
I	Salinité des sols	4
I-1	Définition	4
I-2	Origine des sols salés	4
I-3	Différents types de la salinisation	4
a-	Salinisation primaire	4
B-	Salinisation secondaire	5
I-4	Classification des sols salés	6
I-5	Impacts de la salinité sur le sol	6
I-6	Impacts de la salinité sur la plante	7
II	Stress	7
II-1	Définition du stress	7
II-2	Catégories du stress	7
II-2-1	Stress biotique	7
II-2-2	Stress abiotique	7
II-3	Effets du stress salin	8
II-3-1	Sur la germination	8
II-3-2	Sur l'absorption	8
II-3-3	Sur la croissance et le développement de la plante	9
II-3-3	Sur le comportement biochimique de la plante	9
II-4	Tolérance des plantes au stress salin	9
II-5	Adaptation des plantes à la salinité	10
II-5-1	Adaptation morphologique	10
II-5-2	Adaptation anatomique	10
Chapitre II : Généralités sur les métaux lourds		
I-1	Définition	12
I-2	Propriétés physico-chimiques	12
I-3	Origine des métaux lourds	12

I-3-1	Origine naturelle	12
I-3-1	Origine anthropique	13
I-4	Rôle physiologique des métaux lourds	13
II	Contamination des sols par le Cuivre	13
II-1-1	Propriétés Physico-chimiques du cuivre	13
II-1-2	Propriétés Biologiques	14
II-2	Sources de contamination des écosystèmes par le Cuivre	14
II-3	Utilisation	14
II-4	Rôle physiologique du cuivre	15
II-5	Impacts de la contamination en Cu	15
II-5-1	Fonctionnement de l'écosystème	15
II-5-1-a	Communautés microbiennes et faune du sol	16
II-5-1-b	Communautés végétales	17
II-5-1-c	Plante entière	17
II-6	Stress oxydant	18
III	Antioxydants	20
III-1	Catégories des antioxydants	20
III-1-1	Antioxydants primaires	20
III-1-2	Antioxydants secondaires	21
III-2	Classification des antioxydants	21
III-2-1	Antioxydants synthétiques	21
III-2-2	Substances synergiques	21
III-2-3	Antioxydant d'origine végétale	22
III-3	Différents types des antioxydants	22
III-3-1	Polyphénols	22
III-3-1-1	Voie de l'acide Shikimique	22
III-3-1-2	Voie de l'acide acétique	24
III-3-1-3	Classification	24
III-3-2	Flavonoïdes	25
III-4	Rôle biologique des polyphénols et des flavonoïdes	26
Chapitre III : Différents Précèdes de Phytoremédiation		
I-1	Définition et généralités sur la phytoremédiation	28
I-2	Mécanisme de la phytoremédiation	28
I-3	Techniques de phytoremédiation	28
I-3-1	Rhizofiltration	28
I-3-2	Phytostabilisation	29
I-3-3	Phytodégradation	30
I-3-4	Rhizodégradation	30
I-3-5	Phytovolatilisation	31
I-3-6	Phytoextraction	31
I-3-6-1	Phytoextraction induite	32
I-3-6-2	Phytoextraction continue	33
I-4	Avantages et limites de la technique de phytoextraction	35
I-4-1	Avantages	35
I-4-2	Limites	36
Chapitre V: Présentation de l'<i>Atriplex canescens</i>		
I-1	Description du genre <i>Atriplex</i>	38
I-2	<i>Atriplex</i> en Algérie	39

I-3	<i>Atriplex Canescens</i>	40
I-3-1	Origine	40
I-3-2	Description morphologique	40
I-3-3	Position systématique (FAO, 1971).	41
I-3-4	Exigences écologiques	41
I-3-4	Exigences climatiques	41
I-3-4-1	Exigences climatiques	41
I-3-4-2	Exigences édaphiques	41
II	Intérêt de <i>l'Atriplex canescens</i>	42
II-1	Intérêts économiques et écologiques	42
II-1-1	Mise en valeur des sols pauvres	42
II-1-2	Fixation des dunes	42
II-1-3	Mise en valeur des sols salés	42
II-1-4	Intérêt fourrager	42
III-	Utilisation des atriplex en phytoremédiation	42
Deuxième partie : MATERIELS ET METHODES		
I	Matériel végétal	44
II	Application du stress	44
III	Paramètres analysés	48
III-1	Paramètres biométriques	48
III-1-1	Longueur des tiges	48
III-1-2	Surface foliaire	48
III-1-2	Volume racinaire	48
III-2	Paramètres Hydriques	48
III-2-1	Teneur en eau	48
III-2-2	Teneur relative en eau (RWC)	48
III-2-3	Perte d'eau par transpiration (RWL)	49
III-3	Paramètres biochimiques	49
III-3-1	Dosage de la chlorophylle	49
III-3-2	dosage des Protéines	50
III-3-3	Dosage des sucres solubles	50
III-3-4	Dosage de la proline	51
III-4	Dosages des antioxydants	51
III-4-1	Dosage des polyphenols	51
III-4-2	Dosage des flavonoïdes	52
III-4-a	Dosage des minéraux (Na ⁺ , K ⁺)	52
III-4-b	Dosage de cuivre (Cu)	52
V	Analyse statistique	52
Troisième partie : Résultats et Discussion		
I	Paramètres biométriques	53
I-1	Longueur des tiges	53
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	53
I-2	Volume racinaire	54
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	54
I-3	Surface foliaire	55
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	55
II-	Paramètres hydriques	56
II-1	la teneur en eau	56

	Effet combiné de la salinité et du cuivre	56
II-2	La teneur relative en eau (RWC)	57
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	57
II-3	Perte d'eau par transpiration (RWL)	58
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	58
II-2-A	Sous 0.5 % de NaCl combiné avec 2000,2500 et3000 ppm du cuivre	58
II-2-B	Sous 3% de NaCl combiné avec 2000,2500 et 3000 ppm du cuivre	60
III	Paramètres biochimiques	61
III-1	Protéine	61
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	61
III-2	Chlorophylle	62
III-2-a	Chlorophylle a	62
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	62
III-2-b	Chlorophylle b	63
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	63
III-2-c	Chlorophylle a+b	65
	Effet de NaCl et du cuivre	65
III-3	Sucre soluble	65
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	65
III-3	Teneur en proline	67
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	67
V	Antioxydants	68
V-1	Polyphenols	68
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	68
V-2	Flavonoïdes	70
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	70
VI	Paramètres minéraux	71
VI-1	Teneur en sodium	71
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	71
VI-2	Teneur en potassium	72
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	72
VI-3	Teneur en cuivre	74
	Effet combiné de la salinité et du cuivre	74
VII	VII : Relation entre les antioxydants et les osmorégulateurs	75
	1. Relation entre proline et les polyphenols	
	2. Relation entre proline et les flavonoïdes	76
	3. Relation entre proline et les antioxydants (polyphenols, flavonoïdes)	77
	4. Relation entre les sucres solubles et les polyphenols	78
	5. Relation entre les sucres solubles et les flavonoïdes	79
	6. Relation entre les sucres solubles et les polyphenols, flavonoïdes	80
	7. Relation entre les protéines et les polyphenols	81
	8. Relation entre les protéines et les flavonoïdes	82
	6. Relation entre les protéines, les polyphenols et flavonoïdes	83
	Discussion générale	84
	Conclusion générale	96
	Bibliographie	98
	Annexe	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Classe des sols affectés par les sels	6
Tableau 2	Propriétés physico-chimiques de quelques métaux lourds	12
Tableau 3	Principales classes de composés phénoliques	25
Tableau 4	Différentes classes des flavonoïdes	26
Tableau 5	Nombre de taxons	34
Tableau 6	Exemple de plantes hyperaccumulatrices et leur potentiel d'accumulation	37
Tableau 7	Nombre approximatif des espèces d' <i>Atriplex</i> dans diverses régions et pays arides et semis arides du monde	39
Tableau 8	Les doses salines	44
Tableau 9	Le dispositif expérimental	45
Tableau 10	Composition de la solution nutritive de (Hoagland, 1938)	45
Tableau 11	Longueur des tiges des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	53
Tableau 12	Volume racinaire des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	54
Tableau 13	Surface foliaire des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	56
Tableau 14	La teneur en eau des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre.	57
Tableau 15	La teneur relative en eau (RWC%) des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre.	58
Tableau 16	Perte d'eau par transpiration (RWL) après 30,60 et 120 mn chez l' <i>Atriplex canescens</i> stressé par 0.5 % de NaCl combiné avec 2000, 2500 et 3000ppm du cuivre	59

Tableau 17	Perte d'eau par transpiration (RWL) après 30,60 et 120 mn chez <i>Atriplex canescens</i> stressé par 3 % de NaCl combiné avec 2000 ,2500 et 3000ppm du cuivre.	60
Tableau 18	Teneur en protéines des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	62
Tableau 19	Teneur en chlorophylle a des feuilles plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre.	63
Tableau 20	Teneur en chlorophylle b des feuilles plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	64
Tableau 21	Teneur en chlorophylle a+b des feuilles plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre.	65
Tableau 22	Teneur en sucres solubles dans les feuilles et racines des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	66
Tableau 23	Teneur en proline dans les feuilles et les racines des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	68
Tableau 24	Teneur en polyphénols (mg.g ⁻¹ de poids sec) des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre.	69
Tableau 25	Teneur en flavonoïdes (mg.g ⁻¹ de poids sec) des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre.	71
Tableau 26	Teneur en sodium dans les feuilles et racines des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre.	72
Tableau 27	Teneur en potassium dans les feuilles et racines des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	73
Tableau 28	Dosage du cuivre dans les feuilles et racines des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	74

LISTE DES FIGURES

Figure 01	Voie de la biosynthèse des polyphénols par de l'acide Shikimique	23
Figure 02	Voie de la biosynthèse des polyphénols par l'acide acétique	24
Figure 03	Squelette de base des flavonoïdes	26
Figure 04	Représentation schématique de phytoextraction des métaux à partir du sol	32
Figure 05	Schéma représentant une phytoextraction induite par des chélateurs. La ligne continue représente la teneur en métal de la partie aérienne ; la ligne discontinue représente la production de biomasse de la partie aérienne	33
Figure 06	Schéma représentant une phytoextraction continue : La ligne continue représente la teneur en métal de la partie aérienne ; la ligne discontinue représente la production de biomasse de la partie aérienne	34
Figure 07	Le Schéma du dispositif expérimental	46
Figure 08	Le développement des plantes avant et après le stress	47
Figure 09	Dosage de chlorophylle	49
Figure 10	Dosage des protéines	50
Figure 11	Dosage de sucre soluble	50
Figure 12	Dosage de la proline	51
Figure 13	Dosage de polyphenols	51
Figure 14	Dosage des flavonoïdes	52
Figure 15	Longueur des tiges des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	53
Figure 16	Volume racinaire des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	54
Figure 17	Surface foliaire des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	55
Figure 18	Teneur en eau des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	56

Figure 19	La teneur relative en eau (RWC%) des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre.	57
Figure 20	Perte d'eau par transpiration (RWL) après 30,60 et 120 mn chez l' <i>Atriplex canescens</i> stressé par 0.5 % de NaCl combiné avec 2000 ,2500 et 3000ppm du cuivre	59
Figure 21	Perte d'eau par transpiration (RWL) après 30,60 et 120 mn chez l' <i>Atriplex canescens</i> stressé par 3 % de NaCl combiné avec 2000 ,2500 et 3000ppm du cuivre.	60
Figure 22	Teneur en protéines des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	61
Figure 23	Teneur en chlorophylle a des feuilles plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre.	63
Figure 24	Teneur en chlorophylle b des feuilles plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre.	64
Figure 25	Teneur en chlorophylle a+b des feuilles plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre.	65
Figure 26	Teneur en sucres solubles dans les feuilles et racines des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	66
Figure 27	Teneur en proline dans les feuilles et les racines des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	67
Figure 28	Teneur en polyphénols (mg.g ⁻¹ de poids sec) des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	69
Figure 29	Teneur en flavonoïdes (mg.g ⁻¹ de poids sec) des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre.	70
Figure 30	Teneur en sodium dans les feuilles et racines des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	71
Figure 31	Teneur en potassium dans les feuilles et racines des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	72

Figure 32	Dosage du cuivre dans les feuilles et racines des plantes d' <i>Atriplex canescens</i> stressées au NaCl combiné avec le cuivre	74
Figure33.	Relation entre la proline et polyphénols et des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.	75
Figure34.	Relation entre proline et les flavonoïdes et des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.	76
Figure35.	Relation entre proline, polyphénols et les flavonoïdes et des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.	77
Figure36.	Relation entre les sucres solubles et polyphénols et des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.	78
Figure37	Relation entre les sucres solubles et les flavonoïdes et des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.	79
Figure38	Relation entre les sucres solubles, polyphénols et les flavonoïdes et des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.	80
Figure 39 .	Relation entre les protéines et polyphénols et des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.	81
Figure40	Relation entre les protéines et les flavonoïdes et des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.	82
Figure41	Relation entre les protéines, polyphénols et les flavonoïdes et des feuilles d' <i>Atriplex canescens</i> sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.	83

LISTE DES ABREVIATIONS

AS	Ascorbate
APOD	Ascorbate peroxidase
Ca	Calcium
CAT	Catalase
CE	Conductivité électrique de l'extrait de pâte saturée
CECR	la capacité d'échange cationique racinaire
CaCo3	carbonate de calcium
Chl a	Chlorophylle. type a
Chl b	Chlorophylle. type ab
CR	Capacité de Rétention
°C	Degré Celsius
Cu	Cuivre
DHA	Déhydroascorbate
DO	Densité Optique
ETM	Elément Traces Métalliques
ESP	Pourcentage de sodium échangeable
FAO	Food and Agriculture Organization
F	Test de Fisher
g	Gramme
GR	Glutathion réductase
GSH	Glutathion Réduit
GSSG	Glutathion oxydé
ICDH	Isocitrate déshydrogénase
h	heure
HCl	Acide chlorhydrique
Hect	Hectares
ICARDA	International Center Of Agriculture Research in The Dry Area
ITGC	Institut Technique des Grandes Cultures
K⁺	Potassium.

LR	Longueur des Racines
LT	Longueur des Tiges
MDHA	Monodéhydroascorbate
MF	Matière Fraiche
Mg	Magnésium
mmol	Milimole.
M	Mètre
min	minute
mm	millimètre
N	Normalité
nm	nanomètre
NS	non significatif
LOX	Lipoxygénases. A α -L, acide α - linoléique
P	Probabilité
PPT	polyphénols totaux
Pf	poids frais
pH	Potentiel hydrogène
Pi	Poids initial
ppm	Partie par million
Ps	Poids sec
PPT	poids en pleine turgescence
<i>r</i>	Coefficient de Corrélation
RWC	Relative Water Content
RWL	Relative Water Loss
ROS	Réaction Oxygen Species
SOD	superoxyde dismutase
SAR	Sodique absorption ration
SOS	Salt Overly Sensitive
TE	Teneur en eau
Test-S	Test Student
UV	Ultra Violet

V

volume

µg

Microgramme

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La salinisation des sols constitue un processus important, notamment dans les zones arides et semi-arides, provoquant une dégradation des propriétés physiques, chimiques, et biologiques des sols (**Saidi et al., 2004**). Les conséquences de cette dégradation sont la diminution de la fertilité des sols qui entraîne une réduction des rendements des cultures, et parfois la disparition du couvert végétal naturel. La salinité devient au fil des années l'un des principaux problèmes dans l'utilisation efficace des terres pour l'agriculture et affecte le rendement des cultures dans le monde entier (**Qadir et al., 2014**). Concernant ce problème, **Abbas et al (2011)** ont révélé qu'à l'échelle mondiale, la salinisation des sols se propage à une vitesse pouvant aller jusqu'à 2 millions d'hectares par an dans le monde, les sols salés occupant plus d'un milliard d'hectares, soit environ plus de quatre (04) fois la superficie de l'Algérie. Parmi cette grande superficie, environ 77 millions d'hectares de terres sont salinisés à cause de l'activité humaine, dont 58% dans les régions irriguées (**Metternicht et Zinck, 2003**).

L'Algérie, est parmi les pays les plus menacés par ce problème, ce qui nécessite une surveillance attentive de l'état et de la variation spatiale et temporelle de la salinité des sols pour en freiner les tendances, et assurer une gestion durable des terres. (**Douaoui et Hartani, 2007**).

La pollution des sols par les métaux lourds combinée à la salinité des sols pose également un problème majeur pour la dégradation des sols.

Une pollution environnementale mondiale par des métaux lourds et sa concentration accrue dans le sol deviennent un problème écologique nuisant aux communautés humaines à tous les niveaux (**Ali-Zade et al., 2010; Kabata-Pendias, 2011**). Les métaux lourds sont des substances naturelles trouvées, habituellement à de faibles niveaux, dans le sol, cependant, les métaux émis par des procédés industriels peuvent augmenter leurs concentrations à des niveaux non naturels (**Hill, 2004**).

Les métaux lourds les plus communs trouvés sur les sites contaminés sont le plomb (Pb), le chrome (Cr), l'arsenic (As), le zinc (Zn), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le mercure (Hg) et le Nickel . Leur présence dans le sol peut présenter des risques pour l'homme et l'écosystème et inhiber la biodégradation.

Parmi ces métaux lourds, le cuivre est considéré comme un oligo-élément indispensable à la plante (**Thomas et al ., 1978**), car il joue un rôle important par son action sur le renforcement du métabolisme des protéines des plantes et l'assimilation du CO₂ et dans la synthèse de l'ATP (**Lewis et al .,2001**). L'utilisation de fongicides à base de cuivre dans les vignobles, les vergers et pour d'autres cultures sensibles à des maladies cryptogamiques (notamment pomme de terre, houblon et tomate) est la source principale de la pollution des sols en cuivre (**Tiller et Merry ,1981**), la contamination par le cuivre s'accompagnant souvent d'une mauvaise structure physique du sol (compaction, tassement...), d'une faible rétention de l'eau, d'une pauvreté en nutriments, d'une acidité du sol, d'une sécheresse et d'une forte érosion (**Simmons et al., 2008**). Dans le sol contaminé en cuivre, les déshydrogénases et les catalases impliquées dans la respiration du sol sont inhibées (**Ratnikov et al., 2005**).

Pour annihiler ces effets, il existe principalement des technologies de remédiation mécanique ou physico-chimique, stabilisation / immobilisation et désorption thermique, utilisés pour l'élimination des contaminants (**Belluck et al., 2006**). Ces techniques sont généralement coûteuses et perturbent les mécanismes biologiques du sol. Par conséquent, la technologie de phytoremédiation a reçu une considération croissante (**Marques et al., 2009**). La phytoremédiation est l'utilisation de plantes pour éliminer ou dégrader les contaminants organiques et inorganiques du sol et de l'eau (**Suthan et Suthersan, 2001**).

Parmi cette technique, la phytoextraction qui est basée sur l'utilisation de végétaux hyperaccumulateurs, qui absorbent les métaux du sol et les accumulent dans des organes aériens faciles à récolter. Cette technique, qui se révèle efficace pour une grande variété de métaux lourds (Pb, Cd, Ni, Zn, Cu ...), est aujourd'hui proposée par de nombreuses sociétés, américaines (**McGrath, 1998**), environ 400 espèces, appelées hyperaccumulateurs, ont la capacité de prendre de grandes quantités de métaux. Les espèces hyperaccumulatrices produisent une biomasse très faible tandis que les plantes génèrent une biomasse élevée ne peuvent absorber que des quantités modérées de métaux (**Kabata-Pendias, 2011**).

Les *Atriplex* constituent une réserve fourragère importante, et sont capables d'accumuler de grandes quantités de sel dans leurs tissus et plus particulièrement dans les trichomes, situés à la surface des feuilles (**Mozafar et Goodin, 1970**). Les espèces du genre *Atriplex* sont souvent utilisées dans la réhabilitation de sites difficiles. Elles possèdent par ailleurs, un système racinaire très développé, fixant les couches supérieures

du sol et peuvent être utilisées comme moyen de lutte contre la désertification (**Belkhodja et Bidai, 2004**), elles sont intéressantes pour la fixation et la dépollution des métaux lourds dans les sols (**Walker et al., 2014**).

L'objectif de ce travail s'oriente vers la connaissance de certains mécanismes liés à l'adaptation aux contraintes salines combinées avec le cuivre de l'espèce *Atriplex canescens*

Notre travail comporte trois parties :

- Dans la première nous exposons une recherche bibliographique sur les données de la salinité des sols et le stress, généralité sur les métaux lourds, différents procédés de phytoremédiation, les halophytes et les *Atriplex*.

- La deuxième partie expose la méthodologie adoptée, par la préparation des échantillons, le protocole expérimental et la technique d'analyse retenue dans notre étude.

- Enfin une troisième partie aborde les résultats obtenus, discussion et enfin d'une conclusion générale.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I- Salinité des sols

I-1- Définition

Plusieurs auteurs ont défini la salinité des sols comme étant la présence de concentrations excessives de sels solubles. Les sels solubles englobent une large gamme d'anions et de cations présents dans le sol soit sous forme cristallisée, soit sous forme dissoute dans la solution du sol, soit encore sous forme adsorbée sur la surface des colloïdes (**Douaik, 2005**). Ils sont constitués principalement par le calcium, le magnésium, le sodium et le potassium pour les cations et par les chlorures, les sulfates, les carbonates et les bicarbonates et nitrates pour les anions (**Chesworth, 2008**). Plusieurs processus géochimiques peuvent avoir lieu comme conséquence à l'action des sels solubles dans le sol. Le processus suivant lequel le sol s'enrichit en sels solubles est la salinisation (**IPTRID, 2006**). L'autre processus qui est l'alcalinisation se produit lorsque le pH du sol augmente à des valeurs supérieures à 8,5 (**USSS, 1954**), ce processus est souvent accompagné du processus de sodisation lorsque le sodium échangeable est l'élément majoritaire adsorbé sur le complexe colloïdal (**Chesworth, 2008**).

I-2- Origine des sols salés

La salinité des sols a des sources très variées. Elle provient naturellement par le biais de l'altération des roches mères contenant des minéraux nécessaires à la formation des sels solubles (minéraux sodiques, potassiques, magnésiens, de produits de l'hydrothermalisme riches en soufre et en chlore, ou de la dissolution des évaporites (**Chesworth, 2008**). L'océan peut être une source principale de la salinité, notamment dans les zones côtières (**Kloppmann et al., 2011**) où le matériau de base est constitué de dépôts marins anciens. Les eaux salées des nappes phréatiques ou artésiennes peuvent aboutir à la salinité par remontée de la nappe (**Ben Hassine, 2005**).

I-3- Différents types de la salinisation

a- Salinisation primaire

On distingue en général la salinisation primaire, liée à la présence naturelle relativement concentrée de sels (proximité des mers ou d'océans, présence de dépôts de sels...) (**Lahlou et al., 2000**). 80% des terres salinisées ont une origine naturelle. L'origine de cette salinisation est, soit géologique, marine ou lagunaire correspond à une salinisation

liée au fonctionnement naturel des terrains, sous l'influence du climat, de l'altération des roches et de la dynamique des eaux (**Baba Sidi Kaci, 2010**).

La source principale de sels dans le sol ce sont les minéraux naturels de la croûte terrestre (**Bryssine, 1961**). Les sels solubles peuvent provenir :

- **Soit** de l'altération des roches contenant des minéraux sodiques potassiques et magnésiques, en régions arides et semi-arides, ces sols se concentrant sur place, dans les dépressions fermées,

- **Soit** de dissolution des évaporites contenant des chlorures, des sulfates, etc. Les évaporites se localisent essentiellement dans les bassins élémentaires.

- **Soit** encore de l'altération des roches volcaniques (**Servant, 1976**). Le matériau géologique, par le biais de l'altération peut libérer les éléments nécessaires à la formation des sels solubles (altération de minéraux primaires riches en sodium, de roches volcaniques, des produits de l'hydrothermalisme riches en soufre et en chlore, ou encore dissolution des évaporites, qui sont des accumulations salines anciennes). En effet, durant le processus d'altération chimique, qui implique hydrolyse, hydratation, solution, oxydation et carbonatation, les sels sont libérés progressivement avant de subir une solubilisation. Cependant les causes premières de salure sont fréquemment éloignées dans l'espace du territoire prospecté. L'origine des sels peut se trouver dans les dépôts lagunaires ou matériaux salés plus ou moins récents qui peuvent être eux-mêmes des roches mères des sols et fournir leurs sels aux oueds qui les transportent jusqu'aux nappes superficielles plus ou moins profondes sous les sols des vallées et basses plaines (**Gaucher et Burdin, 1974**).

b- Salinisation secondaire

20% des terres salinisées, soit près de 15million hectares sur le continent africain, ont une origine « anthropique ». On parle alors de salinisation « secondaire », induite par l'activité humaine, liée aux pratiques agricoles et en particulier à l'irrigation. La salinisation secondaire est généralement à l'origine de la diminution de la productivité de la terre car la forte concentration de sel dans le sol s'oppose à la bonne production. Par conséquent, les terres cultivées affectées par NaCl perdent progressivement leur fertilité. A l'échelle globale, la salinité des sols n'est pas un problème spécifique d'une région ou d'un climat donné. Au contraire, si on observe la répartition des sols salins on constate que l'effet de la contrainte saline affecte toutes les régions du monde (**Hosni, 2008**).

I-3- Classification des sols salés

La salinité du sol est décrite et caractérisée en termes de concentration et de type de sels solubles. Selon **USSL (1954)**, les sols affectés par les sels sont classés en fonction de la conductivité électrique de leur extrait de pâte saturée (CE dS.m^{-1}), du pourcentage de sodium échangeable (ESP en %) et de leur pH (**Tableau 1**).

Tableau 1. Classes des sols affectés par les sels (**USSL, 1954**).

Classes	CE (dS.m^{-1})	ESP %	pH
Non salin	<4	<15	<8.5
Salin	>4	<15	<8.5
Sodique	<4	>15	>8.5
Salin – sodique	>4	>15	>8,5

CE : Conductivité électrique de l'extrait de pâte saturée.

pH : pH de l'extrait de pâte saturée.

ESP : Pourcentage de sodium échangeable.

I-4- Impacts de la salinité sur le sol

Plusieurs facteurs interviennent dans la contribution de ces deux processus dans la dégradation des sols. Selon **Richards (1954)**, les sols sodiques ont un pH de plus de 8,5 avec une dominance de l'ion sodium. Cette saturation en sodium provoque généralement la dispersion des particules d'argile avec comme conséquence une dégradation de la structure du sol. De ce fait, le sol devient compact et imperméable, empêchant donc l'aération et la pénétration de l'eau nécessaires pour une croissance régulière des plantes. **Douaoui et al., (2001)** ont montré que la dégradation physique des sols est principalement liée à la sodisation. Ils ont conclu que le ESP (pourcentage de sodium échangeable) est le principal facteur de la dégradation de la structure de surface du sol, suivi par les limons et la salinité. Le taux d'infiltration diminue au fur et à mesure que le SAR et la concentration saline augmentent.

I-5- Impacts de la salinité sur la plante

La salinité provoque un impact négatif sur les rendements des cultures et la production agricole (**Loyer, 1991**). Dans des sols sévèrement touchés par la salinité, il se forme souvent une mince croûte de couleur blanchâtre (efflorescence saline) en surface. Comme conséquence de la salinité sur la plante, le mécanisme essentiel qui limite son développement est la pression osmotique ($PO = 0.036 * CE$) (**Chesworth, 2008**). Selon cette formule empirique, la pression osmotique augmente avec la concentration en sels et rend l'absorption de l'eau par la plante plus difficile (**Loyer, 1991**). **Daddi Bouhoun et Brinis (2004)** ont montré que l'accumulation des sels mesurée dans le sol est suffisante pour provoquer une chute des rendements des palmeraies de la cuvette d'Ouargla. Dans un autre contexte, **Boumia (2011)** a étudié l'effet de la salinité sur la germination des grains de gombo (*Abelmoschus esculentus* L.) en utilisant le NaCl et $NaCl + CaCl_2$ à différentes concentrations en meq /l, a trouvé que les graines expriment une sensibilité à la salinité en termes de précocité, vitesse, temps moyen, et taux final de la germination.

II - Stress

II-1- Définition du stress

Le stress est un ensemble de conditions qui provoquent des changements de processus physiologiques résultant éventuellement en dégâts, dommages, blessures, inhibition de croissance ou de développement. Selon **Dutuit et al (1994)**, le stress est le dysfonctionnement (rupture d'un équilibre fonctionnel) produit dans un organisme ou dans un système vivant, par exemple par une carence. D'après **Jones et al (1989)**, c'est une force ou influence hostile qui tend à empêcher un système normal de fonctionner.

II-2- Catégories du stress

On distingue deux grandes catégories de stress :

II-2-1- Stress biotique

Imposé par d'autres organismes (insectes, herbivores...).

II-2-2- Stress abiotique

Les températures extrêmes, la salinité. Parmi les conditions environnementales qui peuvent causer un stress abiotique, on distingue : les inondations, la sécheresse, les basses ou hautes températures, la salinité excessive des sols ou des eaux, la présence d'un minéral inadéquat dans le sol, cas des métaux lourds, l'excès de lumière qui stimule la photo inhibition, le cas de faible éclaircissement, les radiations (UV), les composés phytotoxiques comme l'ozone qui est un haut réacteur oxydant, la pollution de l'air, les produits oxydés

formés à partir des réactions de pesticide, la sécheresse, le froid et la salinité sont les stress les plus fréquents et les plus étudiés. Ils peuvent imposer aux plantes de la modification métabolique, physiologique et phénologique. Le stress peut déclencher plusieurs réponses à plusieurs niveaux de la plante (**Shilpi et Narendra, 2005**).

Ces mêmes auteurs précisent que, les conséquences d'un stress salin peuvent résulter de trois types d'effets que le sel provoque chez les plantes :

➤ **Stress hydrique** : une forte concentration saline dans le sol est tout d'abord perçue par la plante comme une forte diminution de la disponibilité en eau.

➤ **Stress ionique** : en dépit d'un ajustement osmotique correct, la toxicité ionique survient lorsque l'accumulation de sels dans les tissus perturbe l'activité métabolique.

➤ **Stress nutritionnel** : des concentrations salines trop fortes dans le milieu, provoquent une altération de la nutrition minérale, en particulier vis-à-vis des transporteurs ioniques cellulaires. Le sodium entre en compétition avec le potassium et le calcium, et le chlorure avec le nitrate, le phosphore et le sulfate.

II-3- Effets du stress salin

II-3-1- Sur la germination

La germination des graines est le stade le plus sensible au stress salin et hydrique (**Boulghalagh et al., 2006**). On peut considérer que la plupart des plantes sont plus sensibles à la salinité durant leurs phases de germination et de levée (**Maillard, 2001**). Parmi les causes de l'inhibition de la germination en présence de sel, la variation de l'équilibre hormonal a été évoqué (**Ungar, 1991 ; Abar, 1986 ; Dabez et al., 2001**). Plusieurs auteurs ont montré un retard de la germination causé par la salinité chez plusieurs espèces (**Ndour et Danthu, 2000 ; Boulghalagh et al., 2006 ; Benata et al., 2006**). La réduction du potentiel osmotique de la solution du sol empêche l'imbibition de la graine suite à une diminution des activités enzymatiques et une forte absorption de Na^+ par rapport à K^+ , ce qui conduit à une toxicité embryonnaire et un retard dans les processus métaboliques (**Adel et Bader, 2002**).

II-3-2- Sur l'absorption

Les sels de la solution du sol peuvent se concentrer à hauteur de 2 à 5 fois leur valeur initiale. Ceci cause une augmentation de la pression osmotique de la solution du sol et rend encore plus difficile pour les racines d'extraire l'eau du sol. C'est ce qu'on appelle une

sécheresse physiologique (Maillard, 2001). Les effets osmotiques du stress salin peuvent également limiter la croissance des racines, ce qui limite les possibilités de l'absorption des éléments nutritifs du sol (Jabnoue, 2008).

II-3-3- Sur la croissance et le développement de la plante

Un stress salin extrême conduit au nanisme et à l'inhibition de la croissance racinaire. Les feuilles deviennent sclérosées avant même d'avoir fini leur croissance et l'organisme tout entier risque de dépérir assez vite (Calu, 2006). Les sels accumulés dans le sol peuvent limiter ou complètement arrêter la croissance du végétal suite à une élévation de la pression osmotique du milieu et/ou à l'effet toxique spécifique des éléments (Arbaoui *et al.*, 1999). La salinité diminue la croissance des glycophytes en modifiant l'équilibre hydrique et ionique des tissus (Greenway et Munns, 1980 ; Ouerghi *et al.*, 1998).

II-3-4- Sur le comportement biochimique de la plante

Chez diverses espèces, plus ou moins résistantes, on a observé une augmentation des sucres totaux résultant d'un blocage de la glycolyse ou du saccharose provenant d'une forte hydrolyse de l'amidon (Asloum, 1990). Selon Hadjadj (2009), l'accumulation des sucres solubles est importante dans les feuilles des plantes d'*Atriplex halimus* L. et d'*Atriplex canescens* (Pursh) Nutt, soumises à un stress salin. Le stress salin induit une perturbation de la composition lipidique et protéique au niveau de la membrane cellulaire.

II-4- Tolérance des plantes au stress salin

La caractérisation physiologique de la tolérance des végétaux à la salinité résulte de processus qui permettent au végétal d'absorber l'eau et les sels minéraux à partir de substrats à faibles potentiels hydriques, mais aussi de vivre en acceptant la présence importante de sodium dans ses tissus; les halophytes, qui accumulent le plus de sodium (Elzam et Epstein, 1969 ; Ruse et Epstein, 1981; Guerrier, 1984), se signalent ainsi par une forte capacité d'élaboration de composés organiques (Mercado, 1973 ; Briens et Larhe, 1982 ; Guerrier, 1984), ces deux facteurs permettent le maintien d'une haute pression osmotique interne qui favorise les échanges d'eau entre les compartiments externe et cellulaire (Guerrier, 1984).

Toutes les plantes ne sont pas égales face au stress salin, suivant leur biomasse en présence de sel, quatre grandes tendances ont été discernées :

- **Halophytes vraies**

Dont la production de biomasse est stimulée par la présence de sel. Ces plantes (*Atriplex sp.*, *Salicornia sp.*, *Sueda sp.*) présentent des adaptations poussées et sont naturellement favorisées par la salinité du sol.

- **Halophytes facultatives**

Présentent une légère augmentation de biomasse à des teneurs faibles en sels: *Plantago maritima* et *Aster tripolium*.

- **Halophytes non résistantes**

Supportent de faibles concentrations en sels : *Hordeum sp.*

- **Halophytes ou halophobes**

Sensibles à la présence du sel : *Phaseolus vulgaris*.

II-5- Adaptation des plantes à la salinité

II-5-1- Adaptation morphologique

La succulence, qui se traduit par une accumulation d'eau dans les cellules constitutives des tissus des organes aériens, est l'un des caractères les plus communs aux halophytes. La succulence des cellules foliaires augmente, se traduisant par une augmentation de l'épaisseur des feuilles et l'une des modifications qui apparaît de façon plus importante chez les espèces les plus tolérantes. On note de plus la réduction de la surface foliaire, par exemple chez *Cressacretica* et *Tamarix gallica* (Raache et Karboussa, 2004), la présence d'une cuticule épaisse et l'apparition plus précoce de la lignification de quelques organes à la fin de leur cycle de vie (Poljakoff-Mayer, 1988 ; Raache et Karboussa, 2004).

II-5-2- Adaptation anatomique

Des modifications anatomiques apparaissent au niveau des différents organes lors d'un stress salin. Selon Poljakoff-Mayber (1988), on observe des modifications du cortex chez les halophytes, constitué de deux à trois couches de cellules seulement, ainsi qu'une diminution du diamètre de la stèle au niveau des racines du blé et chez la tige de la tomate, où le cortex devient épais alors que le nombre de vaisseaux conducteurs diminue.

D'autres modifications s'observent sous l'effet de la salinité comme la raréfaction des stomates, la présence de tissus de soutien, et l'abondance du parenchyme aquifère (**Benhamida et Djeghbala, 2005**).

Certaines plantes peuvent développer différentes stratégies qui leur permettent de réguler les concentrations internes en ions. Lors d'un stress salin, les halophytes sont capables de compartimenter les ions Na^+ et Cl^- au niveau vacuolaire. Certaines halophytes possèdent des structures spécialisées, appelées « **glandes à sel** », constituées d'une à plusieurs cellules, sont souvent protégées par une mince cuticule perforée de pores, situés au niveau des cellules épidermiques des feuilles et des tiges, ayant pour rôle d'excréter le sel, lorsque la charge minérale des tissus est excessive, c'est le cas du tamarix (**Thomson, 1975**).

I- Définition

Les métaux lourds sont les éléments métalliques naturels dont la masse volumique dépasse 5g/ml. 50 éléments du tableau périodique sont classés métaux lourds, parmi eux sont 35 considérés comme très toxiques mais 13 sont classés polluants prioritaires, ce sont (antimoine, arsenic, béryllium, cadmium, chrome, plomb, mercure, nickel, sélénium, argent, thallium, zinc et cuivre). (Singh *et al.*, 2003)

I-2- Propriétés physico-chimiques

Pour étudier les mécanismes d'action des métaux lourds il est nécessaire de connaître leurs propriétés physico-chimiques et biologiques d'abord à l'état d'ion libre puis dans la formation des complexes organo-métalliques. (Lee, 1979)

Tableau 2. Propriétés physico-chimiques de quelques métaux lourds (Lee, 1979).

Métal	Symbole	Numéro atomique	Masse atomique	Valence	Point de fusion	Point d'ébullition	Densité
Chrome	Cr	24	51.99	6, 5, 4, 3,2	1 875	2 682	7,17
Fer	Fer	26	55.85	2,3*	1 535	3 000	7,90
Nickel	Ni	28	58.70	2,3	1 555	2 837	8,90
Cuivre	Cu	29	63.55	1,2	1 083	2 595	8,94
Zinc	Zn	30	65.38	2	419	907	7,14
Cadmium	Cd	48	112.48	2	321	767	8,65

Les métaux lourds possèdent un caractère électropositif qui leur confère la faculté de perdre facilement un ou plusieurs électrons pour former des cations de charge variable (Lee, 1979).

I-3- Origine des métaux lourds

I-3- 1 - Origine naturelle

Les métaux lourds sont présents naturellement dans les roches. Ils sont libérés lors de l'altération de celles-ci pour constituer le fond géochimique (Bourrelie et Berthelin, 1998). La concentration naturelle de ces métaux lourds dans les sols varie selon la nature de la roche, sa localisation et son âge.

I-3-2 - Origine anthropique

Cependant, la source majeure de contamination est d'origine anthropique. Au cours des dernières décennies, l'apport de métaux lourds au sol dans le monde s'est étendu. A l'heure actuelle on l'estime à 22000 tonnes de cadmium, 939000 tonnes de cuivre, 783000 tonnes de plomb, et 1350000 tonnes de zinc (**Singh et al., 2003**). Les principaux types de pollutions anthropiques responsables de l'augmentation des flux de métaux, sont la pollution atmosphérique (rejets urbains et industriels), la pollution liée aux activités agricoles et la pollution industrielle.

I-4- Rôle physiologique des métaux lourds

Onze des oligo-éléments (Fe, Zn, Si, Cu, Mn, Ni, Co, Se, F, Cr, Mo, Sn et Al) sont des métaux et tous sont des métaux lourds (**Morrison, 1979**). Ces éléments se trouvent à très faible concentration dans les tissus vivants. Cependant, ils y jouent des rôles importants dans les réactions métaboliques et fonctionnent d'ordinaire comme un centre coordinateur de la structure et de la stabilité des enzymes et des protéines (**Goulot-Perrot, 1983**). Jouant un rôle des plus variés dans les réactions biologiques et selon leur concentration, ils sont soit considérés comme métaux toxiques soit comme éléments nécessaires. Certains de ces éléments peuvent créer des liaisons métal - protéine et sont capables de modifier la structure tertiaire de la protéine. Le cation métallique intervient alors comme intermédiaire pour lier les molécules qui doivent interagir. Mais le plus souvent le cation métallique agit comme agent oxydoréducteur. En général les catalyses par certains métaux lourds sont comparables aux réactions entraînées par le métal seul et celles du système enzymatique. Cependant, ces réactions sont plus rapides en présence de catalyses que par un métal isolé et certains produits toxiques ne résultent pas de ces réactions enzymatiques. Par exemple, la catalyse de l'oxydation de l'acide ascorbique par Cu^{+2} est accrue approximativement 1 000 fois par l'enzyme cuprique (acide ascorbique oxydase) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) n'est pas généré par la réaction enzymatique. Ceci indique une différence possible entre les deux mécanismes (**Coïc et al. 1989**).

II- Contamination des sols par le cuivre

II-1- 1 - Propriétés physico-chimiques du cuivre

Le cuivre est un élément chimique de symbole Cu et de numéro atomique 29, sa masse atomique est 63.546 g/mole. C'est un métal malléable et ductile, et présente sur ses

surfaces fraîches une teinte rosée à pêche, excellent conducteur de la chaleur et de l'électricité, très peu altéré dans ses propriétés fonctionnelles par l'exposition à l'air sec.

Le cuivre existe dans la croûte terrestre avec une concentration d'environ 50 mg/kg. Les principaux minerais du cuivre sont : soit les sulfures, comme la covelline (CuS), le chalcocite (Cu_2S), la chalcopyrite (CuFeS_2), et la bornite (Cu_3FS_3), soit des oxydes comme la malachite ($\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{HO})_2$), le chrysocolle ($\text{CuSiO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) et la chalcantithe ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

II-1- 2 - Propriétés biologiques

A très faible dose, le cuivre est un élément essentiel chez les plantes et l'animal, impliqué dans de nombreuses voies métaboliques, de plus, il est un cofacteur spécifique de nombreuses enzymes et métalloprotéines de structure (OMS-ICPS, 1998). Il a une importance capitale dans l'entretien des processus biologiques.

II-2- Sources de contamination des écosystèmes par le cuivre

Les sources de contamination des écosystèmes par le cuivre ont trois principales origines industrielle, agricole et domestique.

a. Pour l'industrie, les activités sont surtout l'industrie métallurgique et minière, les mines et fonderies de Cu, le raffinage du pétrole, la fabrication de la pâte à papier et du papier, les lessivages de produits de protection du bois et du cuir (Arias *et al.*, 2002 ; Brun *et al.*, 2003).

b. Pour l'agriculture, ce sont les épandages de lisier, le Cu étant utilisé comme additif alimentaire dans les élevages, et l'utilisation de fertilisants, de fongicides et de bactéricide (Acemioglu et Alma, 2004 ; Chen *et al.*, 2005).

c. Pour les sources domestiques, ce sont les épandages de boues de stations d'épuration ou la fertilisation organique avec des composts de déchets verts, d'ordures ménagères... (Adriano, 1986 ; Baize, 1997 ; Arias *et al.*, 2002 ; Brun *et al.*, 2003 ; Acemioglu et Alma, 2004 ; Chen *et al.*, 2005).

II-3- Utilisation

Le cuivre est l'un des métaux les plus employés à cause de ses propriétés physiques et de sa conductibilité électrique et thermique. A l'état métal, il est principalement employé en électricité, en métallurgie pour la composition d'alliages. Sous forme de

sels cuivreux ou cuivriques, on l'utilise dans l'industrie, en agriculture ou enfin en pharmaceutique (**Lamand, 1992**).

En agriculture, le cuivre entre dans la composition de produits tel que les fongicides ou insecticides avec par exemple la bouillie bordelaise utilisée pour le traitement des vignes. Enfin il peut être utilisé comme antiseptique externe (**Cassereau, 2001**).

II-4- Rôle physiologique du cuivre

La nécessité du cuivre pour les vivants a été découverte assez récemment. Il a été reconnu comme un cofacteur essentiel de la synthèse d'un grand nombre de protéines impliquées dans les réactions d'oxydoréduction, liant ou activant de l'oxygène moléculaire. Il est le coenzyme de nombreuses métalloprotéines comme l'acrobate oxydase et tyrosinases (**Favier, 1990**). Le cuivre est un composant indispensable de plusieurs métallo-enzymes dont l'activité est essentiellement oxydasique. Il joue également un rôle dans la photosynthèse et la respiration (**Chappuis, 1991**). Le cuivre joue un rôle déterminant dans la formation des protéines. Il régule différents processus enzymatiques des tissus végétaux, principalement l'oxydase, qui influence à son tour le métabolisme de l'azote. On peut donc dire que le cuivre a un rôle très important dans le métabolisme de la plante.

II-5- Impacts de la contamination en Cu

II-5- 1- Fonctionnement de l'écosystème

Dans les sols contaminés, la contamination s'accompagne souvent d'une mauvaise structure physique du sol (compaction, tassement...), d'une pauvreté en nutriments (**Whiteley, 1993**), d'une faible rétention de l'eau, d'une acidité du sol (**Simmons et al., 2008**), d'une sécheresse et d'une forte érosion (**Wong, 2003**). En sol contaminé en Cu les déshydrogénases et les catalases qui sont impliquées dans la respiration du sol sont inhibées (**Ratnikov et al., 2005**). Lorsque le sol est contaminé en Cu, il y a une diminution et un ralentissement des processus de nitrification (**Sauvé et al., 1997**) et de minéralisation (**Dumestre et al., 1999**), qui se traduit par une moindre décomposition de la litière (**Hutchinson et Symington, 1997**). Il peut donc y avoir une couche de litière plus importante mais l'inverse est aussi rapporté car la production de litière par les plantes est aussi plus faible (**Boon et al., 1998**).

a- Communautés microbiennes et faune du sol

Le nombre, la diversité et l'activité des micro-organismes du sol diminuent en sol contaminé au Cu (**Sauvé et al., 1997**). La structure des communautés microbiennes est modifiée et les activités phosphatases diminuent dans le sol (**Brunner et al., 2008 ; Wang et al., 2008**). Le nombre de nodules au niveau des racines des légumineuses est aussi plus faible (**Mench et al., 2003**). Certains micro-organismes sont capables de s'adapter. Le nombre de colonies fongiques diminue en sol contaminé en cuivre. Les colonies qui survivent sont des espèces capables d'utiliser un plus grand nombre de sources de carbone que des espèces présentes en sol non contaminé (**Simmons et al., 2008 ; Teng et al., 2008**). La diminution de la diversité des micro-organismes serait due à une diminution des sources de nutriments à dégrader (**Teng et al., 2008**). Les effets sont variables d'une espèce à l'autre, par exemple, les bactéries et les protozoaires ne subiraient pas les effets du cuivre tandis que le nombre de nématodes diminuerait (**Boon et al., 1998**). Quel que soit l'organisme considéré, les seuls capables de survivre dans ces sols sont des organismes adaptés à la contamination. Dans des études sur les rhizobiums associés aux racines des légumineuses, ceux-ci survivent et sont efficaces pour la fixation de l'azote atmosphérique jusqu'à 300-340 mg Cu/kg dans le sol (**Smith, 1997 ; Chen et al., 2005**). Au-delà, il y a une diminution du nombre de rhizobiums et de nodules et formation de petits nodules blancs inefficaces pour fixer l'azote (**Chaudhary et al., 2004**). Des populations tolérantes existent : la majorité des rhizobiums qui survivent jusqu'à 1 Mm du cuivre dans la solution sont ceux récoltés sur un site déjà contaminé et qui ont pu s'adapter (**Laguerre et al., 2006**). La diminution du nombre de rhizobiums suite à l'exposition au cuivre est plus forte pour ceux récoltés en site non contaminé (**Wu et Lin, 1990**).

La faune du sol est affectée par la contamination du sol car de nombreux individus comme les lombrics ingèrent des particules du sol ou sont en contact dermal avec lui. Ils accumulent du cuivre et ensuite sont consommés par des prédateurs qui vont accumuler du cuivre à leur tour contaminant la chaîne alimentaire (**Maenpaa et al., 2002**). Chez les vers de terre, la survie en sol contaminé en cuivre ou par du CCA dépend de la dose et de la spéciation mais il y a des modifications comportementales. Par exemple, les vers de terre vont éviter le contact avec le sol contaminé en allant dans d'autres sols moins contaminés ou vont allouer toute leur énergie à la croissance, délaissant leur reproduction (**Leduc et al., 2008**). Chez les escargots, le taux d'herbivorie et la croissance sont plus faibles quand

l'exposition au cuivre augmente (**Peña et Pocsidio, 2007**) et le nombre et le poids des limaces sont plus faibles (**Marigomez et al., 1998**).

b. Communautés végétales

La contamination du sol en Cu entraîne des diminutions de la richesse spécifique, du couvert végétal (**Hutchinson et Symington, 1997**) et de la diversité (**Poschenrieder et al., 2001**) avec une diminution de l'indice de Shannon (**Desrochers et Anand, 2005**). La végétation se présente sous forme de patches et le couvert végétal peut représenter moins de 3% de la surface du sol (**Shu et al. 2005**). La structure des communautés en est modifiée. Les premières plantes à coloniser le sol contaminé vont être les mousses et les herbacées, en particulier les Poacées, car elles sont tolérantes à des conditions environnementales contraignantes (**Hutchinson et Symington, 1997**).

La proportion d'herbacées augmente tandis que celle des plantes ligneuses diminue (**Banasova et al., 2006**). Les familles dominantes sont souvent les Poacées, les Brassicacées et les Fabacées avec une forte capacité d'adaptation pour les Poacées et les Brassicacées et la fixation de l'azote pour les légumineuses (**Wang et al., 2004**). Les Astéracées sont aussi une famille présente sur les sites contaminés (**Del Rio et al., 2002 ; Remon, 2006**). Le cuivre induit une forte pression de sélection sur des familles comme les Rosacées, les Cypéracées et les Apiacées qui vont disparaître (**Vidic et al., 2006**). Parmi les herbacées, la proportion d'annuelles et de bisannuelles est plus importante que celle des pérennes car la végétation est maintenue à un stade précoce de la colonisation (**Remon, 2006**).

La contamination n'a pas que des effets négatifs. Certaines plantes accumulent les contaminants dans leurs parties aériennes pour diminuer la pression de l'herbivorie en rendant leurs feuilles toxiques et moins appétantes (**Meharg, 2005**). Par ailleurs, le nombre d'espèces invasives ou introduites diminue avec l'augmentation de la contamination (**Ginocchio, 2000**).

c. Plante entière

Une contamination en Cu du sol entraîne une exposition des racines via la solution du sol et l'imprégnation en Cu du végétal induit une diminution de la biomasse aérienne des plantes d'autant plus importante que la contamination est élevée (**Cook et al., 1997 ; Vinit-Dunand et al., 2002**). Ces diminutions seraient dues à des faibles niveaux de Ca dans les feuilles car le Ca affecte la division et l'élongation cellulaire (**Cook et al., 1997**).

Il y a apparition de symptômes tels que les chloroses, les nécroses sur limbe supérieur des feuilles et l'épinastie1 (Cuypers, 2000 ; Demirevska-Kepova *et al.*, 2004).

Les chloroses seraient dues à des modifications de l'homéostasie d'éléments essentiels comme le Fe (Chatterjee, 2000 ; Michaud *et al.*, 2007). Les feuilles jaunissent et des spots marron apparaissent sur le limbe, c'est une réponse (Franchin *et al.*, 2007). Des symptômes similaires sont retrouvés chez l'orge (Guo *et al.*, 2007). En stress, la transpiration de la plante augmente et le contenu en eau est plus faible (Demirevska *et al.*, 2004 ; Ashan *et al.*, 2007). Les feuilles sont petites, crispées et ont une teinte vert foncé, c'est le «bronzing » (Bessoule et Mench, 2002) et elles ferment leurs stomates pour limiter les pertes en eau et les chloroplastes sont altérés ou dégradés (Chatterjee, 2000)

II-6- Stress oxydant

L'excès de cuivre dans les cellules est à l'origine d'un stress oxydant (Mench *et al.*, 1998 ; Pilon- Smits, 2005 ; Boojar et Goodarzi, 2007). Le cuivre va induire la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de radicaux libres (Hall, 2002) car il stimule des réactions qui transforment le radical superoxyde en oxygène grâce à un ion métallique et une deuxième réaction qui transforme le peroxyde d'hydrogène en radical hydroxyle (OH) et groupement hydroxyle (OH⁻), (Kehrer, 2000 ; Seol et Javandel, 2008). Le Cuivre peut céder des électrons comme tous les cations, qui vont réduire l'oxygène et ses dérivés en ROS (Remon, 2006). Les ROS sont dangereux pour les cellules car s'ils ne sont pas réduits. Ils altèrent les protéines et les acides aminés, l'ADN, l'ARN et entraînent la peroxydation des lipides membranaires (Cuypers, 2000 ; Boojar et Goodarzi, 2007). Le cuivre peut inhiber l'activité de certaines enzymes en remplaçant un autre élément comme le Fe dans leur site actif mais aussi en modifiant leur structure (Chatterjee, 2000 ; Hall, 2002).

Pour lutter contre les ROS les plantes disposent de métabolites antioxydants de faible poids moléculaire comme l'ascorbate ou vitamine C (AS), le glutathion réduit (GSH) et l' α -tocophérol ou vitamine E et d'enzymes comme la superoxyde dismutase (SOD), les catalases (CAT) et les peroxydases (POD) dont l'ascorbate peroxydase (APOD) (Cuypers *et al.*, 2000 ; Boojar et Goodarzi, 2007). D'autres POD comme les gaïacols peroxydases (GPOD) et les syringaldazine peroxydases (SPOD) sont trouvées dans la littérature (Cuypers *et al.*, 2002).

Chez les plantes il y a deux voies d'élimination du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), les CAT et les APOD, la deuxième voie étant majoritaire (Noctor et Foyer, 1998). La voie des APOD est reliée au cycle de l'ascorbate – glutathion qui joue un rôle important dans la défense contre les ROS. Tous les métabolites et enzymes n'agissent pas au même niveau, les SOD permettent la transformation de O^{-2} en H_2O_2 et O_2 , les CAT, la transformation de H_2O_2 en H_2O et $\frac{1}{2}O_2$ et les POD dont APOD la transformation de H_2O_2 en H_2O (Noctor et Foyer, 1998 ; Boojar et Goodarzi, 2007). L'ascorbate peut réduire directement H_2O_2 ou par l'intermédiaire de APOD tout comme GSH (Smeets *et al.*, 2005) qui font partie du cycle de l'ascorbate et du glutathion (Gupta *et al.*, 1999). Lors de la réduction de H_2O_2 par AS il y a formation de monodéhydroascorbate (MDHA) qui est un radical avec un temps de vie très court qui va se transformer en AS par l'intermédiaire de la MDHA réductase en parallèle avec la transformation de NADPH en $NADP^+$, et aussi le déhydroascorbate DHA s'il n'est pas réduit. La DHA réductase va permettre la transformation du DHA en AS grâce à la transformation du glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG). Le GSH étant un antioxydant dont la plante a besoin et la glutathion réductase (GR) permet de le renouveler à partir du GSSG en parallèle avec la transformation de NADPH en $NADP^+$ (Noctor et Foyer, 1998 ; Gupta *et al.*, 1999). L'ascorbate est important car il est aussi un précurseur de l' α tocophérol, un antioxydant membranaire qui permet de lutter contre la peroxydation des lipides membranaires (Cuypers *et al.*, 2000). Deux autres enzymes seraient impliquées de façon indirecte dans la défense contre les ROS, ce sont l'enzyme malique et l'isocitrate déhydrogénase qui permettent de transformer le $NAD(P)^+$ en $NAD(P)H$ et de restaurer le stock de NADPH nécessaire au fonctionnement des enzymes du cycle de l'ascorbate–glutathion (Smeets *et al.*, 2005).

Lors d'un stress oxydant provoqué par le Cu l'activité de toutes ces enzymes va être modifiée. L'activité des GPOD et SPOD va augmenter dans les racines et les feuilles du haricot (Cuypers *et al.*, 2002). Toujours chez le haricot les activités de APOD, CAT, GR réductase, MDHA réductase et DHA réductase augmentent en lien avec une augmentation de la quantité de AS et GSH (Cuypers *et al.*, 2000). Les SPOD sont des POD membranaires qui seraient impliquées dans la biosynthèse de la lignine, la lignification des racines permettrait à la plante de diminuer l'absorption du Cu (Cuypers *et al.*, 2002), mais cela peut aussi conduire à une inhibition de la croissance des racines. D'autres POD dont l'activité augmente sont les lipoxygénases (LOX). Ce sont des enzymes qui catalysent la

péroxydation des lipides (acides gras poly-insaturés), le métabolisme des LOX serait impliqué dans la nécrose des tissus suite à un stress, l'exposition au Cd par exemple (Montillet *et al.*, 2004). Sous l'action des LOX puis d'autres enzymes il y aurait transformation de l'acide α -linoléique (un acide gras poly-insaturé) en jasmonate. Le jasmonate servirait de signal intermédiaire entre un stimulus extérieur et la réponse de la plante (Wasternack, 2007 ; Balbi et Devoto, 2008). Le jasmonate serait impliqué dans la réponse au stress oxydant dans les cellules et permettrait l'augmentation de l'activité des enzymes impliquées dans la défense contre les ROS en activant leurs gènes (Gupta *et al.*, 1999 ; Cuypers *et al.*, 2000).

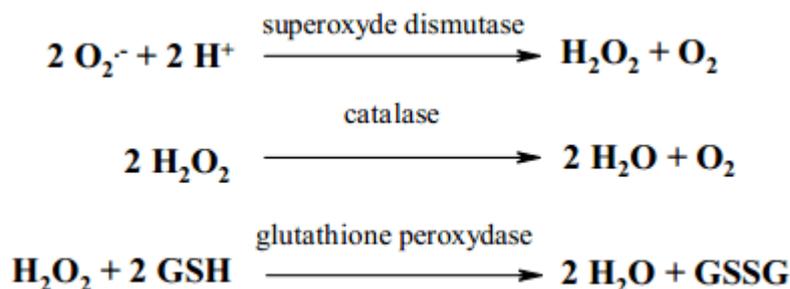
III - Antioxydants

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro- ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (Cano *et al.*, 2006).

III – 1- Catégories des antioxydants

III – 1- 1- Antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Canon *et al.*, 2006). Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

III – 1- 2- Antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (**Dacosta, 2003**). Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent, la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ...etc. (**Bouhadjra, 2011**).

III – 2- Classification des antioxydants

Les antioxydants sont classés dans trois catégories différentes:

III – 2- 1 - Antioxydants synthétiques

Parmi les antioxydants phénoliques de synthèse qui sont autorisés dans certains aliments, le **BHT 321** (3,5-ditertiobuty 1-4-hydroxytoluène), **BHA 320** (3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole), sont l'un et l'autre solubles dans les lipides et résistent bien à la chaleur. Ils ont une action synergique, et présentent l'inconvénient d'avoir une odeur désagréable et s'évapore rapidement. Le **TBHQ** (tertiobutyl-hydroxyquinone) est moins soluble dans les graisses et le PG (gallate de propyle) à l'avantage d'être relativement soluble dans l'eau, mais l'inconvénient d'être peu soluble dans les lipides, peu résistant à la chaleur et de donner avec le fer des sels de couleur foncée. Le nitrite présente des propriétés antioxydantes, il peut aussi former des nitrosamines cancérigènes. Les chélateurs de métaux utilisés et plus efficaces sont les polyphosphates et les dérivés d'acide citrique (**Bouhadjra, 2011**).

III – 2- 2 - Substances synergiques

Ce sont des molécules qui améliorent l'action de certains antioxydants. Ce qui se traduit souvent par un accroissement de la période de protection, parmi eux se trouvent comme des acides lactiques, tartriques et ortho phosphoriques et leurs sels de sodium, potassium ou calcium. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer ou le cuivre, dont on connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose.

Cependant, ce n'est peut-être pas la seule explication, car plusieurs de ces produits sont d'assez mauvais chélatants. (Bouhadjra, 2011)

III – 2- 3 - Antioxydant d'origine végétale

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols (Bouhadjra, 2011).

III – 3- Différents types des antioxydants

III.3.1. Polyphénols

Les polyphénols constituent une famille des molécules très largement répandues dans le règne végétal. On connaît actuellement plusieurs milliers de composés phénoliques, nombre qui augmente sans cesse et qui en fait un groupe chimique particulièrement important (Macheix *et al.*, 2005), possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther méthylique, ester, sucre,...) (Vercauteren *et al.*, 1998).

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromogénèse, la voie de l'acide Shikimique et celle de l'acide acétique (Bruneton, 1999).

III.3.1.1. Voie de l'acide Shikimique

La voie de l'acide Shikimique localisée dans les chloroplastes et conduit à la synthèse de la tyrosine et de la phénylalanine. Ces acides aminés sont transportés dans le cytosol pour la synthèse des composés phénoliques selon les réactions suivantes (Weaver et Herrmann, 1997) :

a- La première réaction est la condensation du phosphoénolpyruvate (PEP) avec l'érythrose-4 phosphate sous l'action d'un aldolase pour former un composé en C7, le 3-désoxy-D-arabino hepyulose-7-phosphate (DAHP) (Gerhard, 1993 ; Bruneton, 1999) - la cyclisation du DAHP en 3-déshydroquinone par déshydroquinone synthase (Gerhard, 1993 ; Bruneton, 1999).

b- La déshydratation du 3-déshydroquinone est catalysée par déshydroquinone hydratase (Gerhard, 1993) qui, en formant transitoirement une base de schiff entre un résidu lysine et le carbonyle du 3-déshydroquinone, induit une élimination d'eau

stéréospécifique, *cis*. C'est après la réduction du 3-d éhydro-shikimate et la phosphorylation du shikimate que se produit la condensation avec une nouvelle molécule de PEP pour former un éther d'énol, le 5-énolpyruvylshikimate 3-phosphate (EPSP). Ce dernier conduit, via une *trans* 1,4 -élimination inhabituelle, au chorismate. L'acide chorismique occupe une position clé dans le métabolisme et son devenir est multiple: réarrangement péricyclique de type claisen en préphénate. C'est la voie qui conduit, via le phénylpyruvate, à la phénylalanine et à la tyrosine (**Figure 01**) (**Bruneton, 1999 ; Floss, 1997**).

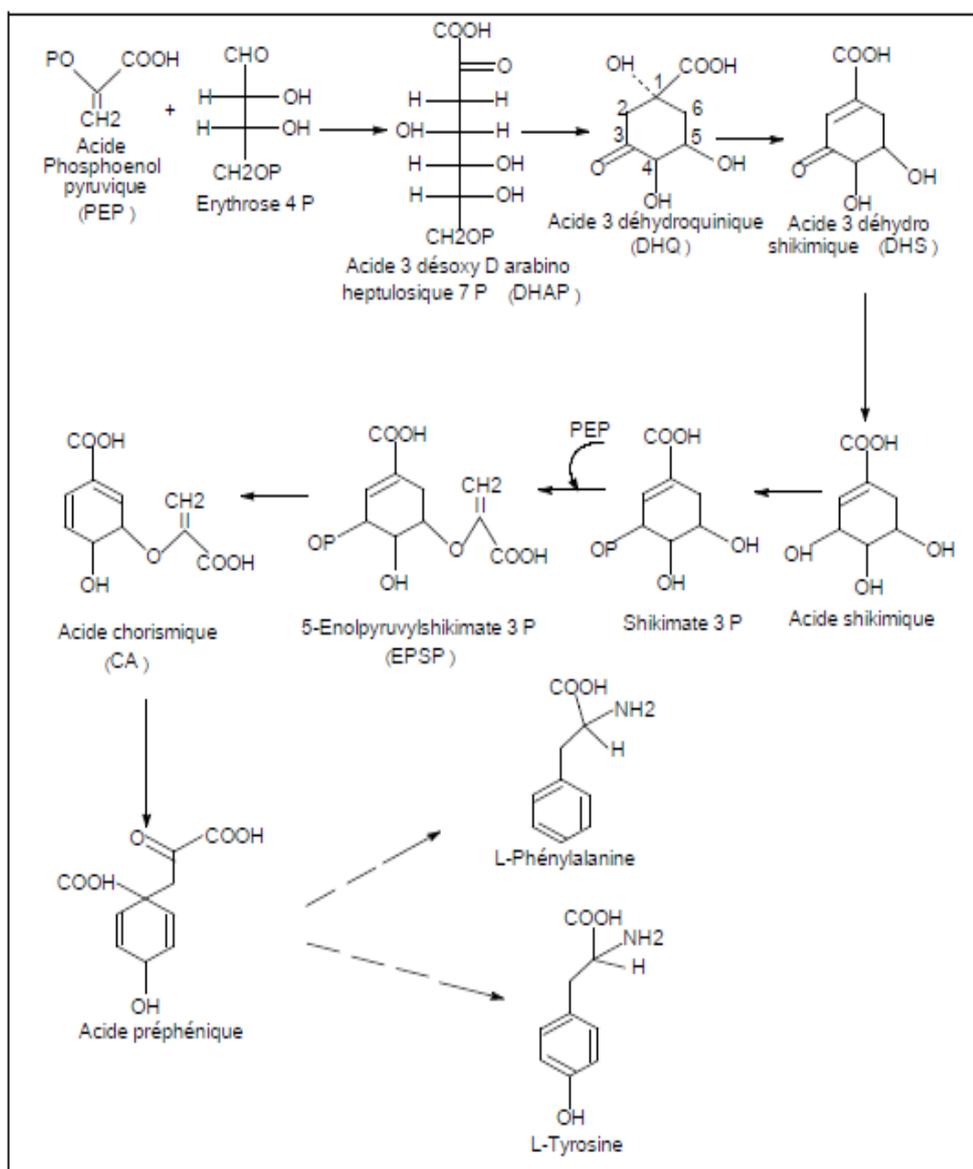


Figure 1. Voie de la biosynthèse des polyphénols par de l'acide Shikimique (**Bruneton, 1999 ; Floss, 1997**).

III.3.1.2. Voie de l'acide acétique

L'acide acétique sous sa forme activée d'acetyl-s-coenzyme A, occupe une position centrale dans la biosynthèse des molécules complexes: une série de condensations de claisen entre unités dicarbonées aboutit à des chaînes polycétométhyléniques qui conduisent, par cyclisation, à une grande variété de composés aromatiques. Une variante, caractérisée par une condensation aldolique conduit, via l'acide 3-hydroxy-3-méthylglutarique et l'acide mévalonique, au vaste ensemble des terpènes (**Figure 02**) (**Bruneton, 2009**).

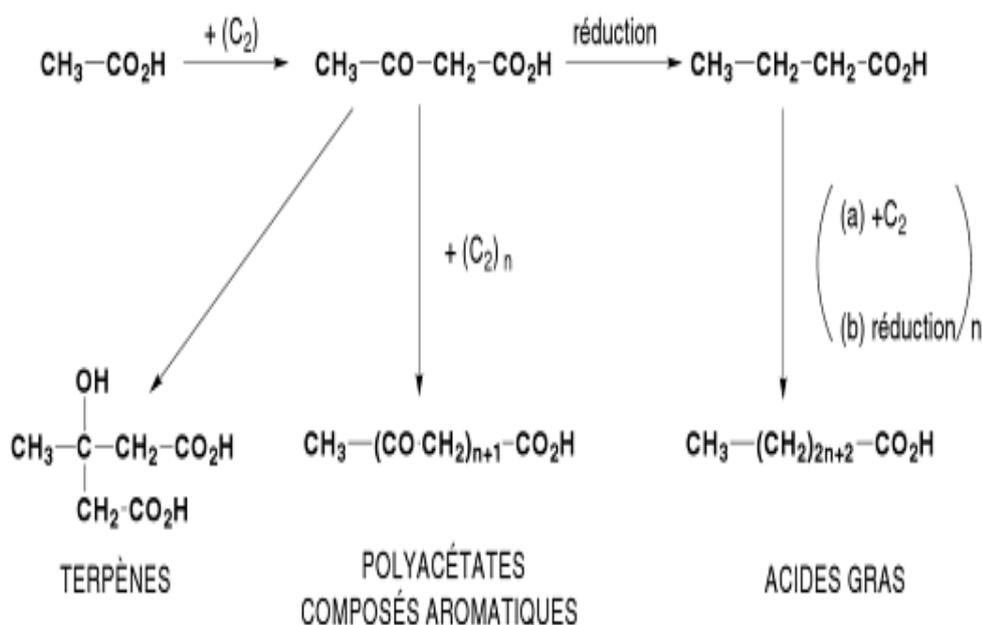
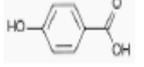
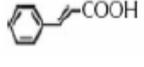
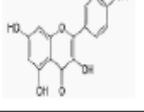
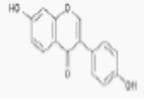
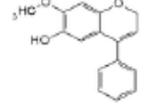
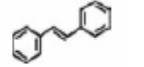
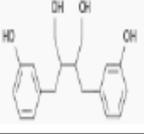


Figure 2. Voie de la biosynthèse des polyphénols par l'acide acétique (**Bruneton, 2009**).

III.3.1.3. Classification

On distingue différentes classes des polyphénols, en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base (**Manchado et Cheyner, 2006 ; Daas Amieur, 2009**)

Tableau 3. Principales classes de composés phénoliques (Manchado et Cheyner, 2006 ; Daas Amiour, 2009).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine	structure
C6	Phénols simples	Hydroquinone	Busserole	
C6-C1	Acide Hydroxybenzoïque	β -hydroxybenzoïque	Epice, fraise	
C6-C3	Acide Hydroxycinnamique	Acide caféique Acide férulique	Pomme de terre, Pomme, citrus	
C6-C3-C6	Flavonoides	Quercétine,	Fruit, légumes,	
	Isoflavonoides	Cyanidine daidzéine	Fleurs, soja, pois	
	Anthocyanes	Dalphinol	<i>Dalbergia sissoo</i>	
C6-C2-C6	Stilbènes	Resvératrol, Hydrongénol Pinosylvine	Vigne	
(C6-C3) ₂	Lignanes	Pinorésinol Matairésinol	Pin	
(C6-C3-C6) _n	Tanins condensés	Aesculitanins	Marronnier d'inde Vigne	

III.3.2. Flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques (Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006). Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (Figure .3) (Lugasi *et al.*, 2003).

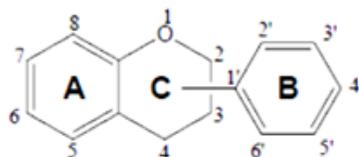


Figure 3. Squelette de base des flavonoïdes (Ribereau et Gayon, 1968).

La cyclisation, le degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C conduisent aux diverses classes de flavonoïdes (Dehak, 2013), dont les plus importantes sont : Anthocyanes; Flavones et flavonols; flavonones et flavononols; chalcones et auronones (Tableau 04) (Collin et Crouzet, 2011).

Tableau 4. Différentes classes des flavonoïdes (Narayana et Al., 2001; Erdman et al., 2007).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétique
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myricétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphinidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	Exemples
		OH	OH	OH	Genistéine
		H	O-Glu	OH	Daïdezine

III.4. Rôle biologique des polyphénols et des flavonoïdes

A l'échelle cellulaire, la répartition des composés phénoliques est très caractéristique de ce qu'ils s'accumulent principalement dans deux sites au niveau de la

paroi cellulaire où sont présentes les lignines (quelquefois certains flavonoïdes et des molécules associées aux lignines comme l'acide férulique) et au niveau de la vacuole où sont stockés les phénols solubles (acide chlorogénique, anthocyanes, flavonols, tanins, etc.). Certains flavonoïdes (quercétine, kœmpférol) pourraient également être présents au niveau du noyau et de la membrane plasmique mais toujours à très faible concentration (**Peer et al., 2001**).

Les flavonoïdes sont présents sous forme glycosylée dans les plantes car la glycosylation a pour effet de les rendre moins réactifs et plus hydrosolubles permettant alors leur stockage dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs, de l'épiderme et du mésophylle des feuilles, des parenchymes des tiges et racines (**Lhuillier, 2007**). On les trouve en abondance dans les familles des Polygonacées, Apiacées, Rutacées, Astéracées, Légumineuses (**Milane, 2004**).

Enfin, il faut noter qu'une bonne connaissance de la répartition des composés phénoliques dans les différents tissus et organes végétaux est souvent essentielle pour orienter l'utilisation que l'homme souhaite en faire. Les polyphénols sont indispensables pour les plantes et assurent plusieurs fonctions, notamment :

Les flavonoïdes sont responsables de la couleur des fleurs, des fruits et des graines et jouent un rôle important dans l'attraction des pollinisateurs et des disperseurs des graines (insectes, oiseaux...) participant ainsi à la fertilité de la plante et la germination du pollen (**Winkel-Shirley, 2001**).

Des composés phénoliques sont impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. Des phénols simples sont synthétisés et l'activité peroxydasique caractéristique des tissus en voie de lignification est stimulée. Ces réactions aboutissent à la formation au niveau de la blessure d'un tissu cicatriciel résistant aux infections (**Bahorun, 1997**). Les polyphénols jouent aussi un rôle primordial dans la protection de la plante en agissant comme antibactériens, antifongiques, antiviraux et insecticides, ainsi leurs concentrations augmentent après infection (**Harborne et Williams, 2000**).

Les flavonoïdes protègent la plante contre le stress oxydatif par modulation des niveaux des ERO et participent à la croissance et au développement de la plante en influençant le transport de la phytohormone l'auxine (**Buer et al., 2010**).

Les flavonoïdes sont des agents allélopatiques en réduisant la compétition des autres espèces des plantes par inhibition de leur germination (**Buer et al., 2010**).

I-1- Définition et généralités sur la phytoremédiation

La phytoremédiation utilise des plantes et des microorganismes associés pour décontaminer l'environnement et/ou minimiser les risques dans les relations sources – exposition - récepteurs **Pilon-Smits (2005)**, définis la phytoremédiation comme étant l'utilisation des plantes chlorophylliennes et leurs des macrobiotes associés pour éliminer, contenir ou rendre non toxiques les contaminants moins toxiques. Elle est basée sur les fonctions des plantes et de leurs microorganismes qui permettent de dégrader ou séquestrer des polluants organiques et inorganiques (**Bert et al., 2000**). Elle peut être utilisée pour des substrats solides, liquides et gazeux et mise en œuvre pour des sols pollués, des eaux polluées (grâce aux plantes aquatiques) ou pour filtrer l'air à l'aide de plantes fixatrices (**Pilon-Smits, 2005**).

I-2- Mécanisme de la phytoremédiation

L'action des plantes sur les polluants intervient à différents niveaux. La phytoremédiation utilise les plantes pour réduire, enlever, dégrader, ou immobiliser les contaminants présents dans les sols, les boues, les sédiments, les eaux de surface, les eaux souterraines ainsi que les eaux usées. Ces techniques sont applicables à une variété de contaminants, incluant les hydrocarbures pétroliers, les solvants chlorés, les métaux, les radionucléides, les nutriments, le pentachlorophénol et les HAP (**Vishnoi et Srivastava, 2008**). Les plantes ont grandement été étudiées, et ce, dans le but de comprendre les mécanismes qui régissent leur capacité à décontaminer les milieux pollués et le rôle qu'elles y jouent.

I-3- Techniques de phytoremédiation

I-3-1- Rhizofiltration

La rhizofiltration appelée également la phytoépuration (ou la phytofiltration), utilise des racines des plantes pour dégrader et/ou éliminer les polluants des effluents (eaux de surface, eaux souterraines extraites, eaux usées, boues liquides). Les systèmes racinaires favorisent la dégradation et la minéralisation de composés organiques, absorbent, précipitent et concentrent les métaux (**Raskin et al., 1994**). Certaines plantes aquatiques peuvent absorber les métaux contenus dans l'eau, c'est le cas notamment de *Oenanthe* sp., *Juncus* sp., *Typha* sp., *Callitriche* sp.1, et *Callitriche* sp.2 (**Ladislav et al., 2011**) et la jacinthe d'eau *Eichhorniacrassipes* (**Kabeer et al., 2014**). Cependant, ces plantes ont un potentiel de rhizofiltration limité car leur système racinaire n'est pas assez développé. La forte teneur en eau de ces plantes aquatiques est un inconvénient pour leur séchage, compostage ou encore leur incinération (**Zhu et al.,**

1999). Les plantes terrestres sont alors favorisées pour ce type de phytoremédiation puisqu'elles sont capables d'absorber une grande quantité de contaminants dans leurs racines (Eapen *et al.*, 2007). D'ailleurs, des études ont démontré que le tournesol (*Helianthus annuus L.*), en raison de ses racines, pouvait réduire la concentration de plusieurs contaminants. En effet, un étang près du désastre nucléaire survenu le 26 avril 1986 à Tchernobyl en Ukraine a été le lieu d'une décontamination par rhizofiltration. En deux semaines, une réduction de 90% du Strontium-90 fut observée, et le mérite est octroyé à *Helianthus* (Susan *et al.* , 2001). Malheureusement, plusieurs désavantages techniques sont associés à cette phytotechnologie dont le besoin d'ajuster constamment le pH afin d'obtenir une absorption optimale des métaux présents dans le milieu et celui de devoir d'abord faire croître les plantes en serre (Henry, 2000). Enfin, la rhizofiltration peut engendrer des coûts qui sont estimés entre deux et six dollars par 1000 gallons d'eaux traitées (EPA, 2000).

I-3-2- Phytostabilisation

La phytostabilisation est une technique de décontamination qui consiste à l'utilisation de plantes afin de contenir ou d'immobiliser les polluants. De ce fait, la mobilité des polluants est réduite ce qui prévient la migration du panache de contamination vers les eaux souterraines ou dans l'atmosphère (Ademe, 2010). Cette technique est principalement utilisée afin de traiter les sols, les sédiments et les boues (EPA, 2000). Sans oublier qu'elle est très efficace dans les cas où l'on désire agir rapidement afin d'immobiliser les contaminants dans le but de préserver la nappe phréatique (ITRC, 1997).

Les mécanismes biologiques impliqués durant la phytostabilisation sont l'absorption et l'accumulation des contaminants par les racines, l'adsorption sur les racines ou la précipitation dans la rhizosphère. La quantité d'eau qui s'infiltré dans le sol peut entraîner la formation de lixiviat contaminé. Ainsi, la présence des plantes réduit la quantité d'eau qui s'infiltré dans le sol et du même coup prévient l'érosion et le transfert de métaux toxiques vers d'autres compartiments comme la nappe phréatique et l'atmosphère (Ghosh et Singh, 2005). D'ailleurs, pour les métaux, qui ne peuvent évidemment pas être dégradés, la phytostabilisation est une avenue intéressante puisqu'elle prévient leur distribution dans l'eau de surface ou souterraine (Gouvernement du Canada, 2008).

Le choix des plantes est une étape qui ne doit pas être négligée lorsque l'on opte pour une technique de phytostabilisation. Ainsi, les plantes les mieux adaptées à la phytostabilisation sont des plantes qui doivent présenter de faibles niveaux d'accumulation des métaux dans leurs

parties aériennes (Evans, 1997).

I-3-3- Phytodégradation

La phytodégradation est la capacité des plantes à transformer des polluants organiques en sous-produits peu ou pas toxiques pour la plante (Newman et Reynolds, 2004). Elle ne s'applique donc pas aux métaux lourds. La dégradation peut se faire au niveau des racines ou dans les parties aériennes sans intervention de microorganismes. La Phytodégradation est couramment utilisée afin de dégrader les polluants organiques, comme les solvants chlorés, les herbicides, les insecticides et les hydrocarbures (Vishnoi et Srivastava, 2008). Cette technique de phytoremédiation, aussi appelée phytotransformation, consiste à la dégradation des polluants organiques en des molécules moins toxiques et plus simples (ADIT, 2006). Ces mécanismes de dégradation qui opèrent se font soit directement par le relâchement d'enzymes produites par la plante dans la rhizosphère ou sont le résultat de l'activité métabolique dans les tissus de la plante (Greipsson, 2011).

Les enzymes impliquées dans la dégradation externe à la plante sont habituellement les déhalogénases, les oxygénases et les réductases (Black, 1995). Une fois dégradés, les contaminants vont être absorbés par la plante, incorporés aux tissus et utilisés comme nutriments afin de contribuer à la croissance de la plante (EPA, 1999). La Phytodégradation peut être utilisée autant pour la décontamination des sols que des eaux. Cependant, elle n'est pas une technique que l'on peut utiliser afin de décontaminer les sols présentant des métaux lourds puisque ceux-ci ne se dégradent pas (Tak *et al.*, 2013). Il est important de ne pas confondre Phytodégradation avec rhizodégradation puisque ce sont deux techniques semblables, mais tout de même distinctes (voir plus bas). En d'autres termes, tout ce qui implique l'activité microbienne dans la rhizosphère ou la dégradation des contaminants par d'autres microorganismes comme les champignons est considéré comme étant de la rhizodégradation (Ahemadand Kibret, 2014).

I-3-4 - Rhizodégradation

La rhizodégradation, aussi nommée phytostimulation, consiste en la dégradation des contaminants présents dans la rhizosphère par l'activité microbienne qui est favorisée par la présence des plantes. Le mécanisme qu'est la rhizodégradation. Les plantes peuvent modifier les propriétés physico-chimiques et biologiques de la rhizosphère par la sécrétion d'exsudats par les racines et à la pénétration des racines dans le sol (McGrath, 1998). Ces composés (sucres, acides aminés, acides gras, nucléotides, enzymes, etc.) qui varient selon les espèces vont avoir

une influence positive sur les populations de microorganismes. Ainsi, lorsqu'un site est végétalisé, on pourrait retrouver une plus grande variété, une quantité plus élevée et une activité plus importante des microorganismes, ce qui entraîne une augmentation de la biodégradation des contaminants dans le sol (Tak *et al.*, 2013). Notamment, certains microorganismes (levures, champignons ou bactéries) ont la capacité de dégrader des contaminants organiques comme les solvants et les hydrocarbures afin de les utiliser comme source de nutrition et d'énergie (UNEP, 2002).

Dans la rhizosphère, on peut retrouver des associations plantes/microorganismes. Ces associations vont s'auto suffire, c'est-à-dire que les plantes vont fournir les nutriments nécessaires aux microorganismes tandis que ceux-ci vont s'assurer que les plantes sont en mesure de croître dans un sol approprié (ITRC, 2009 ; Ahemade et Kibret, 2013). Récemment, des recherches ont démontré que lorsque le peuplier vivait en symbiose avec la bactérie *Methylbacterium populum*, il y avait minéralisation de certains explosifs, par exemple le 1, 3,5-trinitroperhydro-1, 3,5-triazine, mieux connu sous le nom de RDX (Van Aken, 2009). De plus, le mûrier (*Morus rubra*) qui produit des composés phénoliques peut être utilisé afin de décontaminer les sols par rhizodégradation. Ces composés stimulent la dégradation des BPC et des HAP par les bactéries (Oison *et al.*, 2003).

De façon générale, cette technique de phytoremédiation est préférablement utilisée sur des sites qui présentent une contamination en surface ou peu profonde étant donné que la dégradation des polluants s'effectue dans la rhizosphère qui s'étend à seulement 1 millimètre (mm) des racines de la plante (McGrath, 1998 ; Tak *et al.*, 2013 ; Ahemade et Kibret, 2013).

I-3-5- Phytovolatilisation

Elle se base sur l'utilisation de plantes qui absorbent des contaminants toxiques tels que le mercure, le sélénium, l'arsenic et le cuivre (Hg, Se, As Pb, et Cu), afin de transformer certains éléments volatils du sol sous forme gazeuse (ex : Diméthylsélénide) et de les éliminer dans l'atmosphère par évapotranspiration via leurs feuilles (Souza *et al.*, 2012). Pour les éléments comme le sélénium ou le mercure qui deviennent volatils une fois méthylés, il est possible de transformer une plante pour lui faire exprimer une méthylase, qui permettra la dispersion de la pollution par volatilisation (Souza *et al.*, 2012 ; McGrath, 1998).

I-3-6- Phytoextraction : Parmi les différentes méthodes de phytoremédiation, la plus utilisée est la phytoextraction, appliquée particulièrement pour la dépollution des métaux lourds et s'adresse aux sols moyennement à faiblement contaminés (Salt *et al.*, 1998).

Cette technique est basée sur la capacité de certaines plantes à capter, transporter et accumuler les métaux dans les tiges et les feuilles, grâce aux mécanismes de compartimentation et de chélation. Certaines espèces sont même capables de mobiliser les métaux afin de faciliter leur accumulation (Raskin *et al.*, 1997). Après récolte par des méthodes traditionnelles agricoles, les tissus végétaux ayant concentré les métaux lourds seront traités par séchage, incinération ou compost (Ademe, 2010).

Cette technique représente une alternative ou un complément aux traitements physico-chimiques des sols contaminés par les métaux lourds. Le procédé est répété jusqu'à ce que l'abaissement du niveau de pollution du sol soit significatif (Salt *et al.*, 1998 ; Cooper *et al.*, 1999 ; Ademe, 2010).

Pour le traitement de la biomasse produite, les auteurs évoquent souvent l'incinération et la valorisation énergétique. Les cendres seraient stockées en centre d'enfouissement technique ou recyclées en métallurgie (Ademe, 2010).

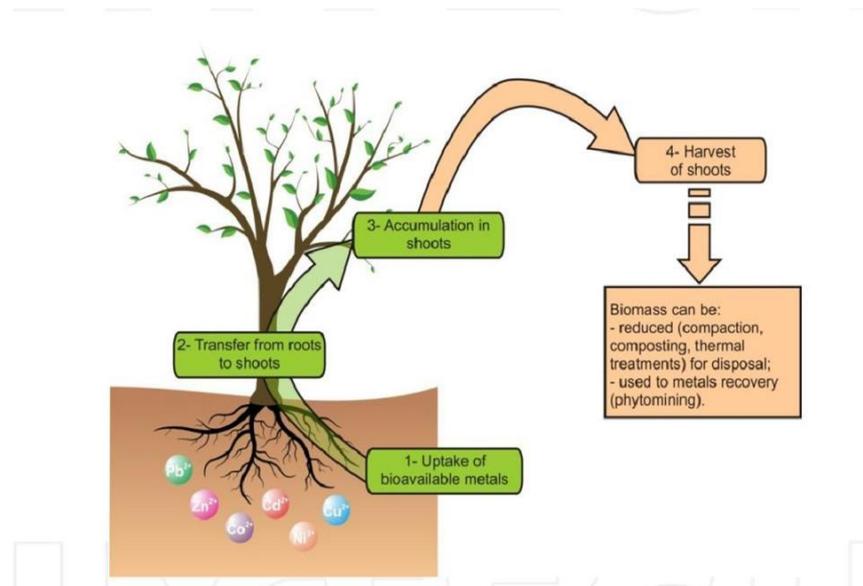


Figure 4. Représentation schématique de phytoextraction des métaux à partir du sol (Favas *et al.*, 2014).

I-3-6-1- Phytoextraction induite

La phytoextraction induite (Figure 5) se fait en présence de chélateurs et de plantes à forte biomasse et à croissance rapide. Lorsque la plante a atteint un certain niveau de croissance, les chélateurs de métaux sont appliqués au sol. Ceux-ci permettent d'induire l'accumulation de métaux lourds dans la plante par augmentation de la biodisponibilité de l'élément ciblé. Plusieurs résultats ont été obtenus en fonction des espèces et la pollution ciblée.

En effet, les travaux de **Luo et al. (2006)**, sur la phytoextraction de Cu, Pb, Zn et Cd par *Zea mays* L. assisté par des chélateurs montrent une augmentation des concentrations de Cu, Pb, Zn et Cd dans les parties aériennes. **Jarvis et Leung (2002)**, ont montré que la plante *Pinusradiata* n'est capable d'accumuler naturellement que 60 à 80 mg.kg⁻¹ de plomb, l'application d'un chélateur synthétique, comme l'EDTA ou l'H-EDTA multiplie par 5 ou 6 son pouvoir d'absorption du plomb.

En fait, lors de l'ajout du chélateur dans le site contaminé par Cu, Zn, Mn et Pb, ceux-ci sont absorbés et migrent vers la partie aérienne de *Brassicainapus* où ils s'accumulent sous la forme du complexe métal-EDTA (**Zaier et al., 2010**). Ce phénomène a pu être décrit *Ipomoneaaquatica* (water spinach); l'ajout d'EDTA permet une augmentation de l'accumulation de chrome (Cr III) dans la partie racinaire (**Chen et al., 2010**).

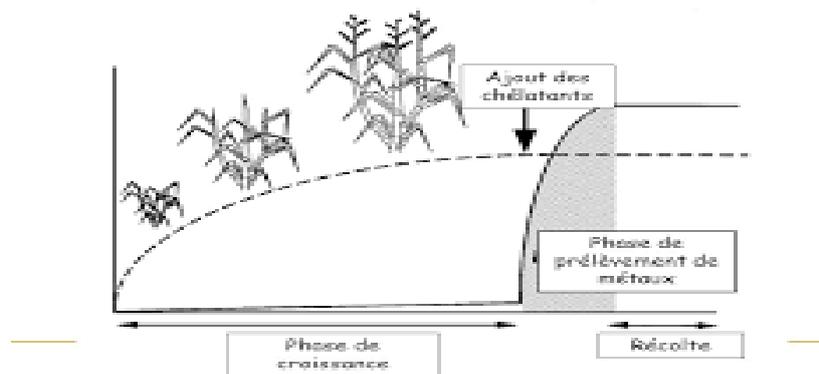


Figure 5. Schéma représentant une phytoextraction induite par des chélateurs. La ligne continue représente la teneur en métal de la partie aérienne ; la ligne discontinue représente la production de biomasse de la partie aérienne (**Salt et al., 1998**).

I-3-6-2- Phytoextraction continue

Pour pratiquer la phytoextraction continue (**Figure 6**), les plantes utilisées doivent se caractériser par leurs capacités génétiques et physiologiques des plantes spécialisées dans l'absorption, la translocation et la tolérance (transfert du polluant des racines vers les feuilles) des quantités importantes de polluants (métaux lourds) dans leurs organes, ainsi que leurs capacités à résister à de fortes teneurs en métaux (**Anderson, 2000**). Ces teneurs très supérieures aux niveaux habituellement rencontrés ont donné leur nom aux plantes hyperaccumulatrices, et la notion d'hyperaccumulation. **Brooks et al (1998)** ont utilisé le terme «hyper accumulateur = hyperaccumulatrices» la première fois pour décrire des plantes avec une teneur en nickel supérieure à 0,1% de leur matière sèche, ce qui correspond à une valeur

nettement plus élevée que celle rencontrée chez les plantes non accumulatrices (**Bakeur et al., 2000**).

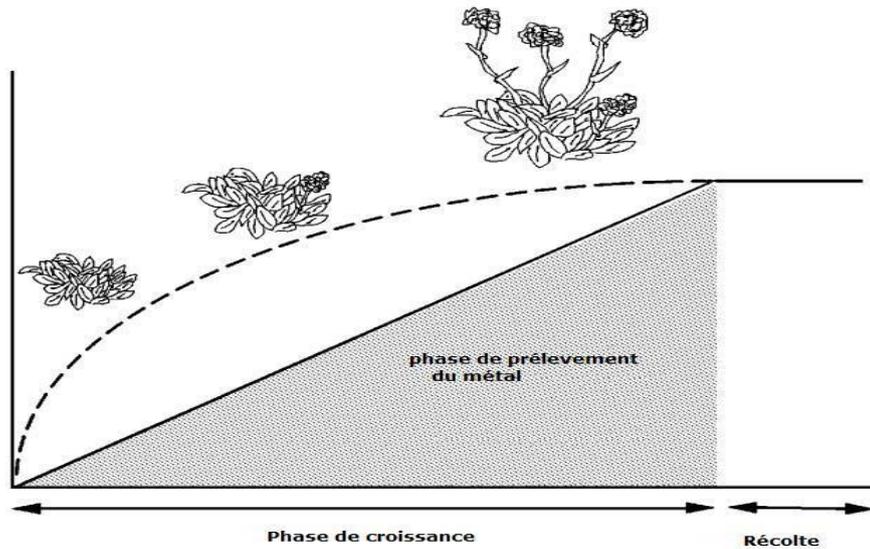


Figure 6. Schéma représentant une phytoextraction continue : La ligne continue représente la teneur en métal de la partie aérienne ; la ligne discontinue représente la production de biomasse de la partie aérienne (**Salt et al., 1998**).

Selon **Morel et al. (1997)**, Plus de 500 espèces de plantes reconnues comme étant des hyper accumulateurs de métaux lourds, la majeure partie d'entre elles (300 espèces) accumulant, Cadmium, Cobalt, Cuivre, Plomb, Nickel, Manganèse et zinc (**Tableau. 5**).

Tableau 5. Nombre de taxons (**Morel et al., 1997**).

Nombre de plantes hyperaccumulatrices			
Métal	Concentration dans les feuilles (% de matière sèche)	Nombre de taxons	Nombre de familles
Cadmium	> 0,001	1	1
Cobalt	> 0,1	26	12
Cuivre	> 0,1	24	11
Plomb	> 0,1	5	3
Nickel	> 0,1	Plus de 300	35
Manganèse	> 1	8	5
Zinc	> 1	18	5

Les plantes hyperaccumulatrices devraient avoir une valeur seuil d'accumulation de métaux dans leur partie aérienne à 1% pour Zn, Mn, 0,1% pour Pb, Cu et Al, 0,01% pour Cd et Se et 0,001% pour Hg de leur matière sèche (**Baker et Brooks, 1989**).

Lombi et al. (2001) ont mis en évidence l'accumulation de $8,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ de Cd et 200 mg.kg^{-1} de Zn par *Thlaspi caerulescens*, cette plante extrémophile s'étant développée sur un sol contenant 19 mg.kg^{-1} de Cd et 2920 mg.kg^{-1} de Zn. Cependant, ces plantes qui tolèrent des concentrations 5 à 100 fois plus élevées que les autres métallobytes (Cu, Zn, Pb et Cd) ont une croissance lente et possèdent une faible biomasse. Par conséquent, un temps assez long est nécessaire pour décontaminer un site.

De plus, l'accumulation d'un métal peut être modifiée quand on est en présence d'un sol contenant une contamination polymétallique. Actuellement, environ 400 espèces hyperaccumulatrices ont été répertoriées, on peut citer par exemple le tournesol, le colza, l'orge, le pissenlit (**Baker et al., 1999**). Selon **Sterckeman et al. (2004)**; **Mulligan et al. (2001)** ; **Tremel-Schaub et Feix (2005)** , les plantes à utiliser doivent être choisies en fonction de la nature du polluant afin que la plante soit capable de le stocker et surtout accumuler une quantité importante de polluants. Les critères de sélection des plantes se résument comme suit :

- a- Capacité de la plante à accumuler les polluants ;
- b- Vitesse de croissance rapide ;
- c- Importance de la biomasse ;
- d- Résistance à une humidité permanente.

I-3- Avantages et limites de la technique de phytoextraction

I-3-1- Avantages

La technique de phytoextraction présente de nombreux intérêts, d'ordre environnemental et économique. En effet, l'activité biologique et la structure des sols sont maintenues après le traitement. En plus, le coût de la technique est bien moindre que celui de procédés traditionnels *in situ* et *ex situ* et varie selon les contaminants. Le coût d'un traitement *in situ* en présence de contaminants organiques et inorganiques est de l'ordre de 10\$ à 40\$ par tonne de sols (**Mulligan et al., 2001**). D'autre part, les plantes permettent de conserver un paysage agréable (reverdissement et floraison), et aussi d'installer une communauté de microflore et de microfaune métallo-résistantes pouvant agir en synergie avec ces plantes afin d'accélérer le processus de décontamination. Les plantes peuvent être facilement surveillées et récoltées à des fins de traitement et la biomasse végétale réutilisée (**Kumar et al., 1995** ; **Raskin et al., 1997** ; **Blaylock et Huang, 2000** ; **Garbisu et Alkorta, 2001**). D'autre part, les métaux lourds peuvent aussi être récupérés et réutilisés. Enfin, cette technique biologique est facilement

acceptée par le public dans le contexte de la préservation de l'environnement, du développement durable, et dans l'aspect esthétiquement plaisant de son application.

I-3-1-Limites

Cependant comme d'autres techniques de dépollution, la phytoextraction comporte des désavantages. Cette idée a été initialement introduite par **Baker et al. (1989)**. Malheureusement, la majorité des plantes hyperaccumulatrices présentent une faible production de biomasse et une vitesse de croissance lente demandant un investissement en temps assez important, et/ou en argent avec l'adjonction de chélateurs ou autres substances « starter ». La concentration et le type de métaux lourds influencent la phytotoxicité, et dans certains cas, la croissance des plantes peut être réduite (**Shah et Nongkynrih, 2007 ; Salt et al., 1998 ; Singh et al., 2003**).

La plupart des études ont pour objectif de découvrir des plantes hyperaccumulatrices ayant une forte production de biomasse. La transformation par génie génétique des plantes sensibles à forte production de biomasse en plantes hyperaccumulatrices pourrait également être envisagée. Pour cela, il est nécessaire de comprendre les mécanismes biochimiques et moléculaires intervenant dans la réponse de la plante survenant lors d'un stress aux métaux lourds. (**Kärenlampi et al., 2000**). Le tableau 6 représente les plantes hyperaccumulatrices connues et leurs capacités de dépollution des métaux lourds.

Tableau 6. Exemple de plantes hyperaccumulatrices et leur potentiel d'accumulation (Kärenlampi *et al.*, 2000).

Espèce de plante	Métal	Concentration de métal (mg.kg ⁻¹)	Référence
<i>Thlaspi caerulescens</i>	Zn	1800	Reeves et Brooks (1983)
<i>Thlaspi caerulescens</i>	Cd	39600	Barker et Walker (1990)
<i>Thlaspi rotundifolium</i>	Pb	8200	Reeves et Brooks (1983)
<i>Zea mays</i>	Pb	4900	Huang et Cunningham (1996)
<i>Ambrosia artemissifolia</i>	Pb	24000	Huang et Cunningham (1996)
<i>Ipomea alpina</i>	Cu	12300	Barker et Walker (1990)
<i>Serbetia acuminata</i>	Ni	25% (WS)	Jaffre <i>et al.</i> , (1976)
<i>Berkheya coddii</i>	Ni	5500	Robinson <i>et al.</i> , (1997)
<i>Arabidopsis halleri</i>	Zn	3000 5500	Zhao <i>et al.</i> (2000) Robinson (2007)

Enfin, la phytoextraction induite avec ajout des chélateurs permet d'augmenter la mobilité et la biodisponibilité des métaux lourds, et la capacité d'extraction et de transport du métal dans les plantes (Huang *et al.*, 1997 ; Blaylock *et al.*, 1997). Cependant, les chélateurs présentent des risques pour l'environnement et il manque des données concernant la persistance des chélateurs de métaux lourds dans les sols contaminés (Lombi *et al.*, 2001).

Pour l'amélioration des rendements de phytoextraction, la plupart des études sur ce thème concernent la sélection de plantes hyperaccumulatrices et la rhizosphère (Wenzel, 2009).

I-1- Description du genre *Atriplex*

Le genre *Atriplex* est le plus grand et le plus diversifié de la famille des *Chénopodiaceae* et compte environ 400 espèces réparties dans les régions tempérées, subtropicales et dans les différentes régions arides et semi-arides du monde. Il est particulièrement répandu en Australie où on peut déterminer une grande diversité d'espèces et de sous-espèces. Le genre *Atriplex* inclut 48 espèces et sous-espèces dans le bassin méditerranéen (Maalem, 2002).

On trouve également des exemplaires de ce genre dans les régions polaires, bien qu'en nombre très réduit. Généralement, il est associé aux sols salins ou alcalins et aux milieux arides, désertiques ou semi-désertiques (Rosas, 1989).

Ce genre comprend surtout des plantes herbacées vivaces et, plus rarement, des arbres et des arbustes. Les *Atriplex* sont des plantes halophytes dotées d'une série de caractères écologiques et physiologiques permettant la croissance et la reproduction dans un environnement salin (Maalem, 2002), elles sont donc en mesure de vivre sur des sols au taux élevé de sels inorganiques. Souvent, il s'agit de composants dominants des marécages salés et, vu que les sols salins sont typiques des milieux arides, de nombreuses espèces présentent également des adaptations xérophytiques (Mulas et Mulas, 2004). La fleur, dont la morphologie est souvent utile pour l'identification, est enveloppée de deux bractéoles, d'une consistance généralement foliacée, qui permettent de distinguer les espèces en fonction de leur forme et si elles se présentent ou non soudées les unes aux autres. Les espèces du genre *Atriplex* sont caractérisées par le haut degré de tolérance à l'aridité et à la salinité et par leur capacité de procurer des fourrages riches en protéines et en carotène. Par ailleurs, elles ont la propriété de produire une abondante biomasse foliaire et de la maintenir active durant les périodes défavorables de l'année (Rosas, 1989; Mulas, et Mulas, 2004).

Le genre *Atriplex* appartient au groupe des plantes en mesure de fixer le CO₂ par biosynthèse C₄. De nombreuses recherches ont démontré que ce type de plantes est caractérisé par une grande productivité, une résistance au déficit hydrique, une capacité particulière d'utiliser l'énergie lumineuse et un métabolisme qui exige du sodium comme élément essentiel. Pratiquement toutes les espèces appartenant au genre *Atriplex* sont dioïques; il existe cependant des arbustes monoïques (Mulas et Mulas, 2004)

Tableau 7. Nombre approximatif des espèces d'*Atriplex* dans diverses régions et pays arides et semi-arides du monde (**Le houerou, 1992**)

Pays ou régions	Nombre d'espèces et/ou sous-espèces	Pays ou régions	Nombre d'espèces et/ou sous espèces
Etats-Unis	110	Baja Californie (Mexique)	25
Australie	78	Afrique du nord	18
Bassin méditer.	50	Texas	20
Europe	40	Afrique du sud	20
URSS	40	Iran	20
Proche-Orient	36	Syrie	18
Mexique	35	Palestine / Jordanie	17
Argentine	35	Algérie / Tunisie	17
Californie	32	Bolivie / Pérou	16
Chili	30		

I-2- *Atriplex* en Algérie

En Afrique du nord, le genre *Atriplex* comprend 18 espèces, 15 espèces spontanées et 03 espèces naturalisées, dont 7 vivaces, 1 bisannuelle et 10 annuelles (**Le houerou et Pantanier, 1988**).

En Algérie les *Atriplex* sont réparties dans les régions : Batna, Biskra, Boussaâda, Djelfa, Saïda, Tébessa, Tiaret (**Pouget, 1980**) et Bechar, Hoggar (**Khiali, 1991**), par *Atriplex halimus L*, *Atriplex Portulocoides*, qui sont utilisées comme fourrage par les troupeaux surtout les ovins et les dromadaires.

D'autres espèces ont été introduites durant les années 80, ce sont les *Atriplex canescens* et *Atriplex nummularia* pour leur double intérêt : lutte contre l'érosion et la désertification, et l'adaptation particulière due essentiellement à ses caractères intéressants pour la réadaptation des sols (*canescens*) avec les ressources fourragères (H.C.D.S, 1996).

I-3- *Atriplex Canescens*

I-3- 1- Origine

L'aire d'origine d'*Atriplex Canescens* s'étend du Mexique central au Canada (Amérique du nord). Elle est introduite en Afrique du nord à partir des Etats-Unis (Nouveau Mexique, Arizona), et à partir de la Tunisie vers l'Algérie pour être utilisée dans les projets de fixation des dunes (Gougue, 2005).

I-3- 2 -Description morphologique

L'*Atriplex Canescens* est un arbuste buissonneux de 1 à 3m de hauteur, formant une touffe pouvant atteindre 3m de diamètre avec proportion importante de biomasse lignifiée. Les rameaux à la base de couleur blanche, sont nombreux et longs, souvent arqués et peuvent être redressés ou couchés au sommet. Les feuilles de couleur verte grisâtre, entières, alternes, et courtement pétiolées de 3 à 5m de long et de 0.3 à 0.5 cm de large. Les inflorescences sont dioïques, pour les inflorescences mâles sont en épis simples ou panicules localisées au sommet, et pour les inflorescences femelles sont axillaires ou en épis sub terminaux. Les valves fructifiées sont pédonculées, plus ou moins dentées de 0.8 à 1.5 de large. Les graines vêtues de 4 ailes à bords denticulés ont des dimensions de 10 à 20mm (Franclet et Lehouerou, 1971; Benrbiha, 1987)

I-3- 3-Position systématique (FAO, 1971).

Selon (FAO, 1971), la systématique d'*Atriplex canescens* est représentée comme suit :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : *Angiospermes*
- Classe : *Dicotylédones*
- Sous-classe : *Apétales*
- Ordre : *Centrospermales*
- Famille : *Chénopodiaceae*
- Genre : *Atriplex*
- Espèce : *Atriplex canescens (Pursh) Nutt*

Dans sa terminologie originelle (Etats-Unis), il est connu sous le nom de «**Forwing salt bush**», dans le sens de buisson salé. Son nom arabe est aussi le **Gttaf**.

I-3- 4- Exigences écologiques

I-3- 4- 1-Exigences climatiques

Elles se trouvent dans les étages bioclimatiques semi-arides et arides supérieur et moyen, à hiver chaud et froid (**Francllet et Lehouerou, 1971**) entre des isohyètes de 150 à 200mm dans son aire d'origine d'optimum et de température qui peut aller de - 2°C jusqu'à +35°C (**Hamidi, 2000**). Elle peut résister également à la sécheresse, et tout cela explique la grandeur de l'aire de répartition de cette espèce dans le monde (**Francllet et Lehouerou, 1971**).

I-3- 4- 2-Exigences édaphiques

L'*Atriplex canescens* est très hétérogène, peut être cultivée sur des sols divers, et non fertiles dans des climats différents (**Lehouerou, 1985**), et se développe sur des sols dont la conductivité électrique de l'extrait de la pâte saturée peut dépasser 20mmhos/cm (**Francllet et Lehouerou, 1971**).

II-Intérêt de l'*Atriplex canescens*

II-1- Intérêts économiques et écologiques

II-1-1- Mise en valeur des sols pauvres

Les *Atriplex* sont les arbustes les mieux adaptés aux régions arides et aux sols pauvres. D'autre part, la couverture de l'*Atriplex* accroît considérablement la perméabilité des sols et l'augmentation de drainage dans les horizons superficiels. (**Hamidi, 2000**)

II-1-2- Fixation des dunes

L'emploi des *Atriplex* s'est révélé extrêmement efficace pour la fixation des dunes. En Algérie des essais réalisés sur le cordon dunaire dans la région de Djelfa, Boussaâda avec plusieurs espèces d'*Atriplex* semblent donner un résultat satisfaisant (**Benrebiha, 1987**).

II-1-3- Mise en valeur des sols salés

Les *Atriplex* peuvent aussi "désaliniser" les sols. Elles sont donc des cultures qui peuvent être utilisées dans les régions menacées par la salinité. (Benahmed *et al.*, 1996).

II-1-4- Intérêt fourrager

L'*Atriplex* constitue en période de sécheresse, un fourrage apprécié des camélidés et particulièrement des ovins et des caprins (Kinet *et al.*, 1998). Ce sont des espèces riches en matières azotées (1.5 à 3.7%) mais pauvres en énergie (El Shaer et Kanill, 1998).

III-2- Utilisation des *Atriplex* en phytoremédiation

Plusieurs *Atriplex* sp. ont des caractéristiques excellentes qui contribuent beaucoup à la réduction de l'érosion éolienne et hydrique du sol par la structure de son système racinaire (Grantz *et al.*, 1998), et par leur port rampant et marcottant naturellement (Dutuit, 1999).

Certains estiment qu'elle pourrait contribuer à la désalinisation des sols, dans les régions arides (Dassarma et Arora, 2001). Il est possible d'extraire d'un hectare 1100 Kg de NaCl en une année de culture (Franclet et Lehouerou, 1971). Dans les pays arides où existent de vastes superficies où l'on trouve une eau souterraine saline peu profonde, on peut planter des espèces tolérantes au sel pour pomper cette eau profonde grâce à leur système racinaire très développé (Elmzouri *et al.*, 2000). De même, les espèces d'*Atriplex* annuelles sont connues pour contenir de fortes teneurs en fer, en manganèse, en aluminium et en molybdène (Voorhees *et al.*, 1991), ainsi que le sélénium en grandes quantités. Dans ce dernier cas, la plante pourrait être capable d'en assurer la volatilisation (Vickerman *et al.*, 2002). Les arbustes des zones salines naturelles sont coupés et utilisés pour la production importante de combustible par les habitants de ces lieux (Lailhacar *et al.*, 1996). Les arbustes qui atteignent environ 50 cm de haut et 6 mètres de diamètre, constituent un moyen possible d'éviter la poussière et d'améliorer à la fois les conditions d'existence et l'esthétique des lieux (Dutuit *et al.*, 1991).

MATERIEL ET METHODES

I - Matériel végétal

Les graines d'*Atriplex canescens* Pursh Nutt récoltées au cours de la période de décembre 2014 dans la région d'El-Bayad dans le sud-ouest de l'Algérie sont décortiquées, désinfectées à l'hypochlorite de sodium (2%) pendant quelques minutes, ensuite rincées à l'eau distillée. Après la germination dans des alvéoles, les plantules sont repiquées dans des pots en plastique (de 16 cm de diamètre et de 13.8 cm de hauteur) remplis par 2280 g de mélange de sable et de terreau (deux volumes / un volume). Un arrosage tous les trois jours est effectué à la solution nutritive (Hogland, 1938) à 80% de la capacité de rétention du substrat, douze traitements sont retenus avec 4 répétitions, soit 48 pots.

II - Application du stress

Les plantes d'*Atriplex canescens* sont dosées avec deux compositions, saline et du cuivre avec des concentrations différentes (**Tableau .8**) :

Tableau8.Les doses salines

Sels	Dose		
Témoin	0		
NaCl %+ Cuivre (ppm)	0.5+2000	0.5+2500	0.5+3000
NaCl %+ Cuivre (ppm)	3+2000	3+2500	3+3000

Au 90ème jour après le repiquage, on a appliqué le stress salin aux plantes à l'aide des différentes solutions salines et métalliques durant un mois (**Tableau 8**). Les plantes traitées sont arrosées deux fois par semaine avec différentes solutions jusqu'à la fin de l'expérimentation. Les plantes témoins sont arrosées deux fois par semaine par la solution nutritive (**Hoagland, 1938**) (**Tableau10**). A la fin du stress, les plantes sont prélevées, les feuilles et les racines séparées, et étuvées durant 48 heures à 80°C. Les échantillons secs sont broyés et déposés dans des flacons en verre.

Tableau 9. Dispositif experimental

	Lot ₁	Lot ₂	Lot ₃	Lot ₄	Lot ₅	Lot ₆	Lot ₇
NaCl (%)	0	0,5	0,5	0,5	3	3	3
Cuivre (ppm)	0	2000	2500	3000	2000	2500	3000

Tableau 10. Composition de la solution nutritive de (**Hoagland ,1938**)

Composants	Nomenclature	Poids en g/l
Nitrate de potassium	KNO ₃	191.90
Nitrate de calcium	(NO ₃) ₂ Ca 4H ₂ O	129.80
Nitrate d'ammonium	NO ₃ NH ₄	210
Sulfate de magnésium	SO ₄ Mg 7H ₂ O	61.5
Phosphate mono Potassique	PO ₄ H ₂ K	54.40
Di-potassium hydrogénophosphate	PO ₄ K ₂ H 3H ₂ O	34.23
Chlorure de manganèse	Cl ₂ Mn 4H ₂ O	1.80
Sulfate de cuivre	Cu SO ₄ 5H ₂ O	0.176
Sulfate de zinc	Zn SO ₄ 7H ₂ O	0.219
Acide borique	H ₃ BO ₃	2.861
Molybdate d'ammonium	MO ₇ O ₂ 4 (NH ₄) 7H ₂ O	0.285
Complexe ferrique	EDTA ferrique(C ₁₀ H ₁₂ FeN ₂ NaO ₈)	0.050

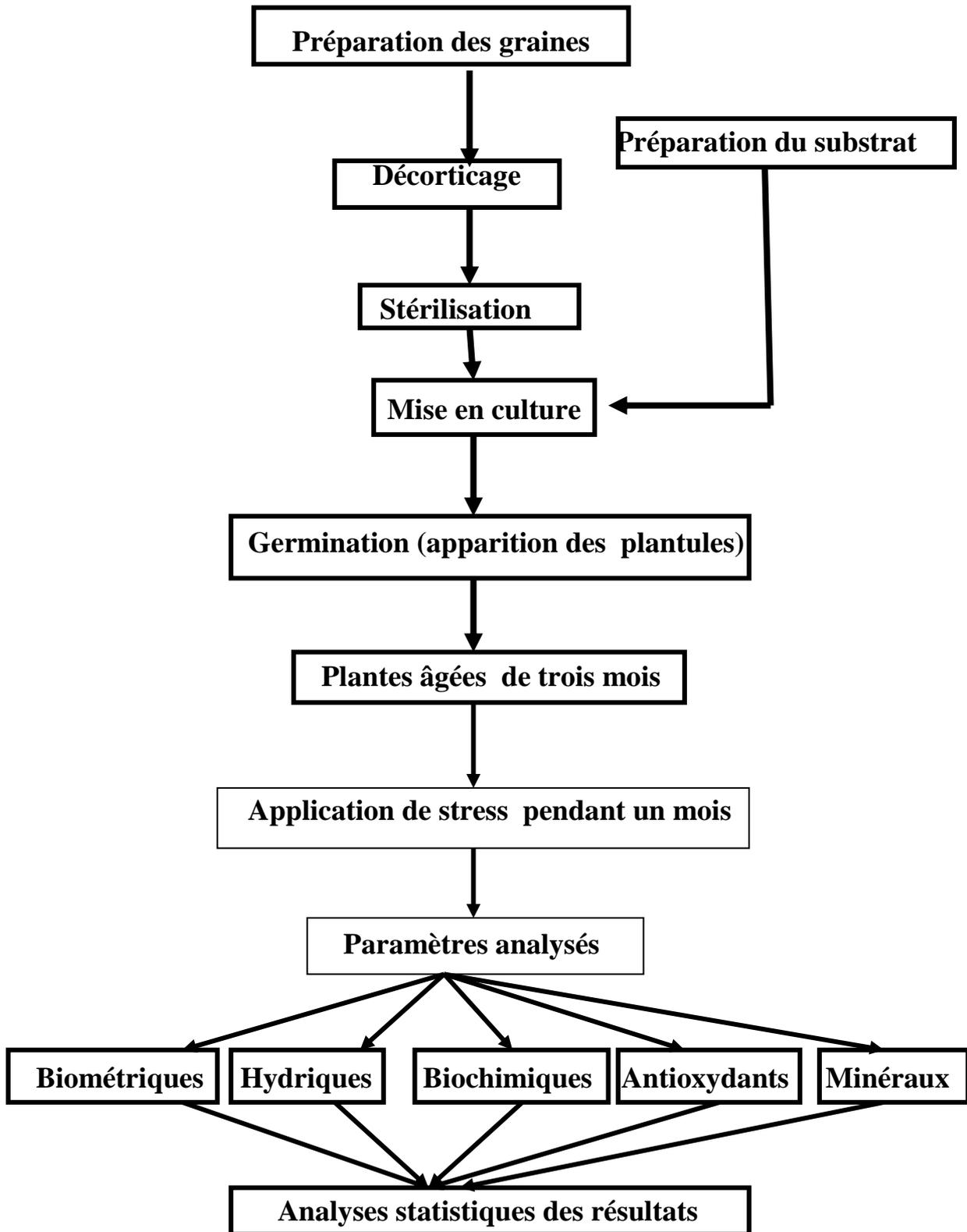


Figure 7. Le Schéma du dispositif expérimental

a - Avant stress



Plantule âgée d'une semaine



Plantule âgée de deux semaines



Plantule âgée de quatre semaines



Plantule âgée de huit semaines

b- Après un mois de stress



Plantes témoins



Plantes stressées de 0.5% de NaCl combiné avec 2000 ppm du cuivre



Plantes stressées de 0.5% de NaCl combiné avec 2500 ppm du cuivre



Plantes stressées de 0.5% de NaCl combiné avec 3000 ppm du cuivre



Plantes stressées au 3% de NaCl combiné avec 2000 ppm du cuivre



Plantes stressées au 0.5% de NaCl combiné avec 2500 ppm du cuivre



Plantes stressées au 0.5% de NaCl combiné avec 2000 ppm du cuivre

Figure 8. Développement des plantes avant et après le stress

III -Paramètres analysés

1-Paramètres biométriques

1 -1 - Longueur des tiges

La longueur des tiges est mesurée chaque semaine durant toute la période du stress, les données représentent les moyennes obtenues des quatre répétitions par traitement.

1 -2 - Surface foliaire

La surface foliaire (Sf) est estimée selon la méthode de (Paul et al ., 1979), qui consiste à placer une feuille de papier calque, découper ses contours, puis peser la partie du calque qui représente la feuille (Pf), enfin déterminer par des pesées le poids correspondant à une surface (Sq) connue d'un carré de même papier calque et déduire la surface de la feuille (Sf) par la formule suivante : $Sf (cm^2) = \frac{Pf-Sq}{Pq}$

1 -3 - Volume racinaire

Il est mesuré par immersion du système racinaire dans une éprouvette graduée (en ml) remplie d'eau, selon le principe de la poussée d'Archimède, soit : Le volume d'un corps immergé est égal au volume du liquide déplacé (dénivellation).

2- Paramètres Hydriques

2-1 - Teneur en eau

La teneur en eau de toute la plante est la différence entre le poids frais et le poids sec (dessèchement à 80 °C pendant 48h). Cette différence est exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche selon la formule suivante :

$$TE = ((PF-PS) / PF) \times 100$$

Avec : TE : teneur en eau des plants (en %)

PF : poids frais juste après prélèvement (en g)

PS: poids sec après 48 heures de séchage à l'étuve (en g)

2-2- Teneur relative en eau (RWC)

La teneur relative en eau (RWC) est déterminée selon la méthode de (Barrs , Weatherley (1962) , et Scippa (2004) par la formule suivante :

$$\text{RWC (\%)} = \frac{P_f - P_s}{P_{pt} - P_s} \times 100 \text{ par}$$

2-3- Perte d'eau par transpiration (RWL)

La perte d'eau par transpiration (RWL) est évaluée selon la méthode de **Clarke, J.M** et **Mclaig T.M.,(1989)** , par la formule suivante :

$$\text{RWL}_x \text{ (mg d'eau perdue.cm}^{-2}\text{.min}^{-1}\text{)} = (P_i - p_{t_x}) \cdot \frac{1}{\text{surface.temps}}$$

3- Paramètres biochimiques :

3-1- Dosage de la chlorophylle

Les teneurs en chlorophylle **(a)** et **(b)** sont déterminées selon la méthode de **Lichtenthaler (1987)** . La densité optique est lue à l'aide de spectrophotomètre, deux mesures de densité optique sont effectuées à deux longueurs d'onde 662 et 664 nm.

Les teneurs de la chlorophylle **a**, de la chlorophylle **b** et les chlorophylles totales sont calculées par les formules suivantes :

$$\text{Chl a} = 9,784 \times \text{Do (662)} - 0,99 \times \text{Do (664)}$$

$$\text{Chl b} = 21,42 \times \text{Do (664)} - 4,65 \times \text{Do (662)}$$

$$\text{Chlorophylle totale} = \text{Chl a} + \text{Chl b.}$$



Figure 9. Dosage de chlorophylle .

3-2- Dosage des Protéines

La méthode retenue pour le dosage des protéines totales est celle de **Bradford (1976)** qui utilise le BSA (Sérum d'Albumine de Bovin) comme standard. La quantité des protéines a été déterminée par la formule :

$$Y=0.0123X+0.0118 \quad Y : \text{densité optique} \quad X : \text{quantité de protéine en (mg/l)}$$

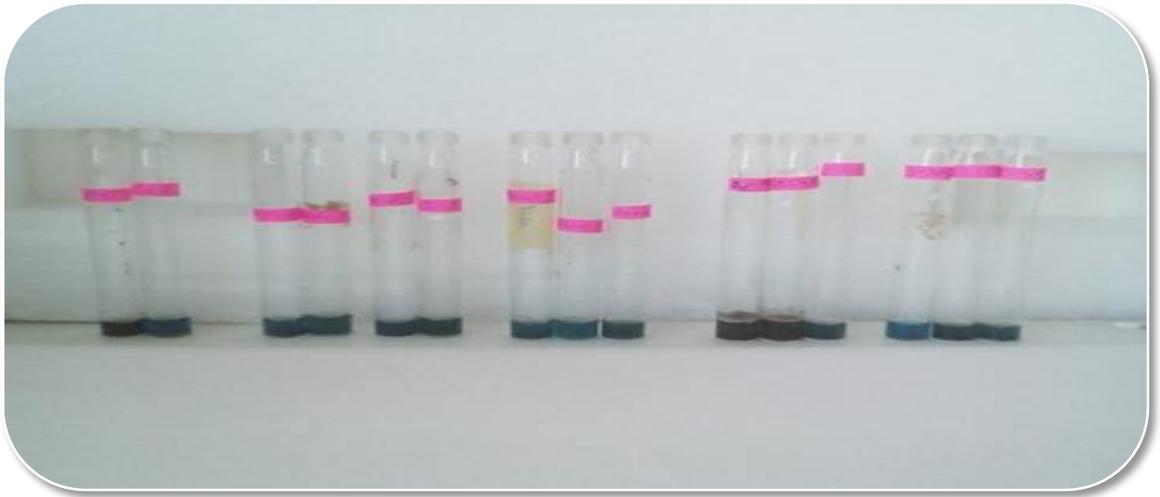


Figure10. Dosage des protéines

3-3- Dosage des sucres solubles

La teneur en sucres solubles est déterminée par la méthode de **Dubois et al. (1965)** par la mesure de l'absorbance à 490 nm.

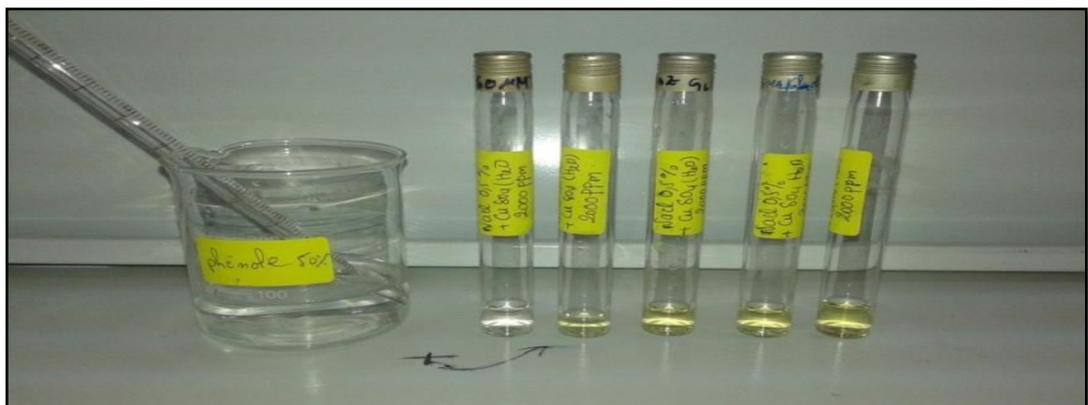


Figure 11. Dosage de sucre soluble

3-4 - Dosage de la proline

La proline est dosée selon la technique utilisée par (Troll et Lindesly , 1955), simplifiée et mise au point par (Dreier et Goring ,1974). Le principe est la quantification de la réaction proline-ninhydrine par mesure spectrophotométrique

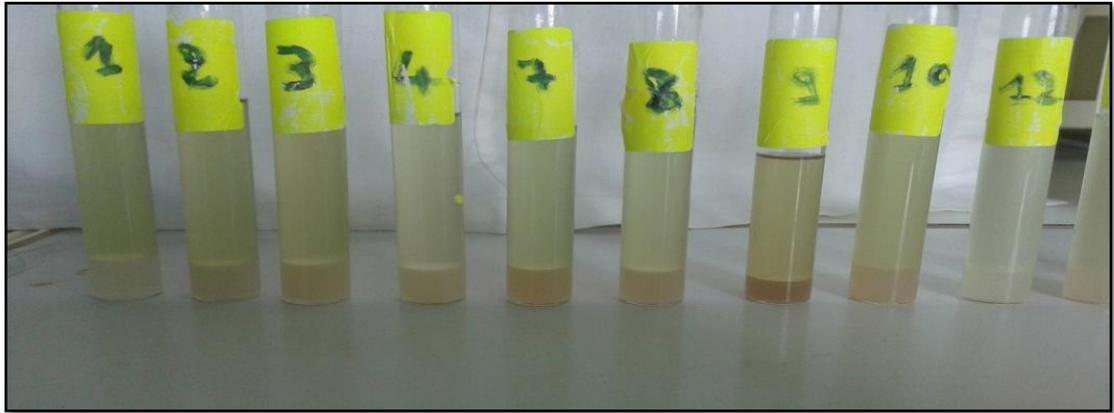


Figure 12. Dosage de la proline

4 - Dosages des antioxydants

4-1 - Dosage des polyphenols

Le dosage des polyphenols totaux est effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Cio calteu selon la méthode citée par (Wong *et al.*, 2006).

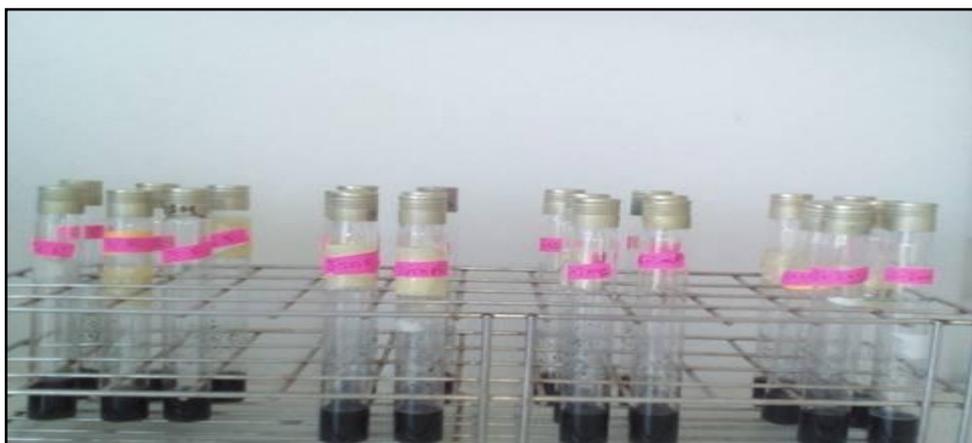


Figure 13. Dosage de polyphenols

4-2 – Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) citée par (Djeridane *et al.*, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits des feuilles.

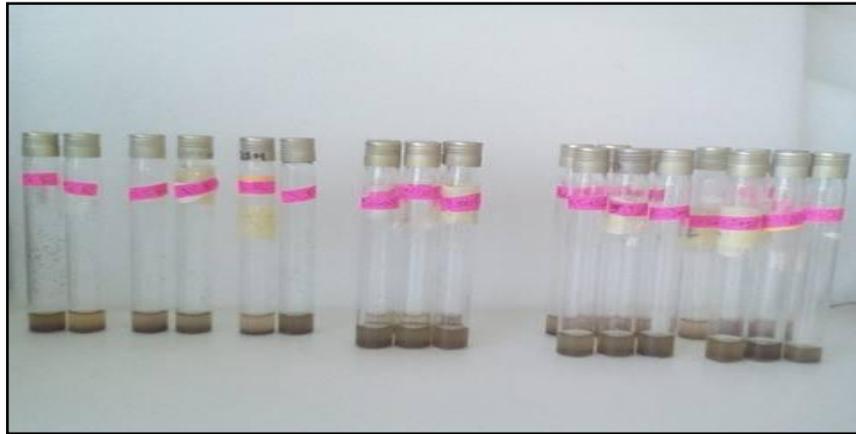


Figure 14. Dosage des flavonoïdes

5 –a- Dosage des minéraux (Na^+ et K^+)

La méthode utilisée est décrite par le C.I.R.A.D (2004). Elle permet de mettre en solution les éléments minéraux contenus dans un matériel végétal, (les cations Na^+ , K^+ , sont dosés par spectrophotométrie de flamme)

5-b- dosage du cuivre

Le dosage de Cuivre dans les différents extraits des feuilles des plantes ont été optimisés suivant la méthode citée par Hoenig et Kersabiec (1989)

V - Analyse statistique

Les résultats obtenus sont traités statistiquement à l'aide du logiciel Stat box. Version 6.4, d'une analyse de la variance faisant appel au test de Newman-Keuls $P = 5\%$.

RESULTATS
ET
DISCUSSION

Effet combiné de la salinité et du cuivre sur :

I-1- Paramètres biométriques

I-1-1- Longueur des tiges

Les résultats moyens, illustrés sur la **figure 15**, révèlent que la contrainte saline combinée avec le cuivre, dans sa globalité, n'a pas induit de grande différence au niveau de ce paramètre.

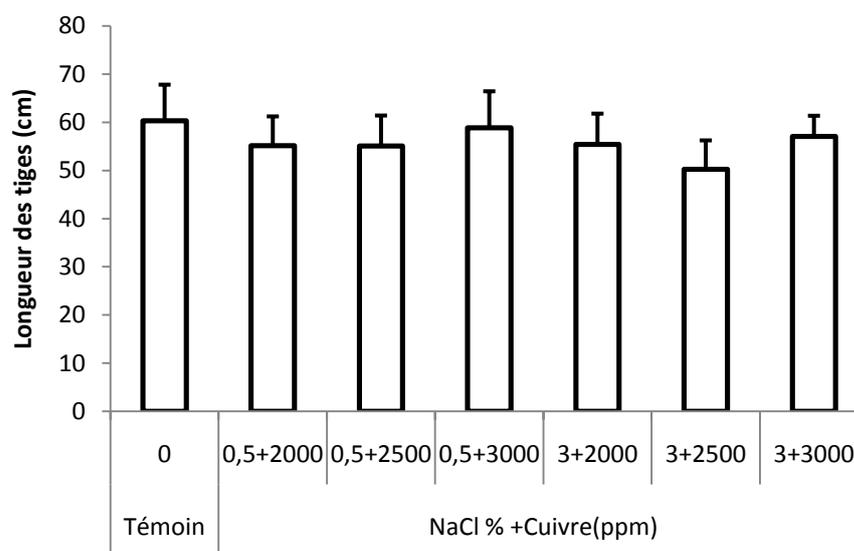


Figure 15. Longueur des tiges des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

Les plus faibles valeurs de la longueur des tiges des plantes stressées sont obtenues au niveau de 0.5 % de NaCl combiné avec 2000 et 2500 ppm de cuivre et de 3% de NaCl combiné avec 2500 ppm de cuivre (55.12, 55.01 et 50.25 cm) respectivement.

Tableau 11. Longueur des tiges des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

	Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration	0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
La longueur des tiges (cm)	60.33±7.48	55.12±6.11 NS	55.1±6.31 NS	58.87±7.57 NS	55.41±6.39 NS	50.25±6 S	57.04±4.32 NS

L'analyse statistique à l'aide du test de Fisher à $p=5\%$, montre que l'effet est non significatif chez les plantes traitées par le sel combiné avec le cuivre, sauf au niveau de traitement de 3 % de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre, où l'effet est significatif.

I-1-2- Volume racinaire

D'après les résultats obtenus (**figure 16**), on n'observe pas de grande différence chez les plantes sous traitement de 0.5% de NaCl combiné avec 2000 ppm de cuivre par rapport aux plantes témoins. Pour les autres traitements, le volume racinaire augmente avec l'augmentation des doses.

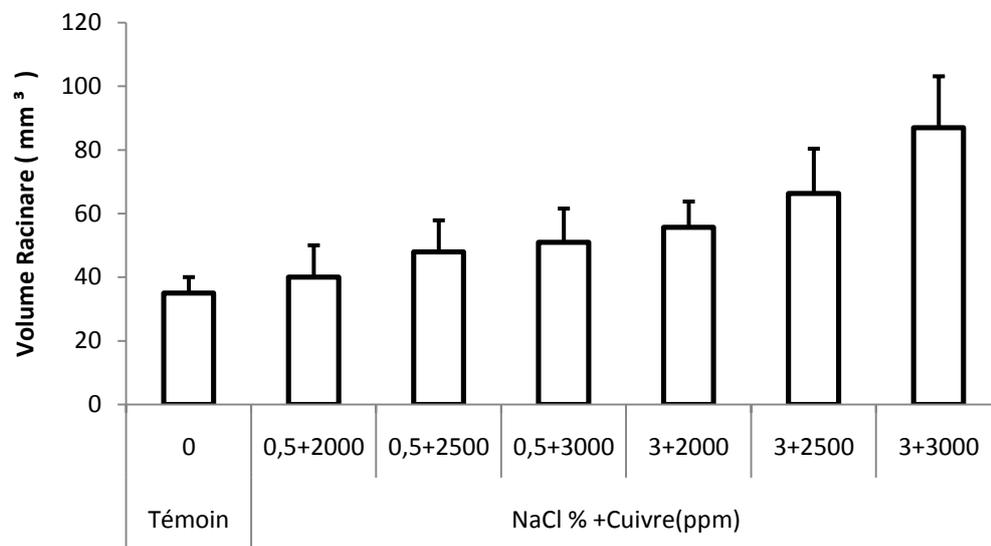


Figure 16. Volume racinaire des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

Le volume racinaire le plus élevé est obtenu à la dose de 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre (87 cm³).

Tableau 12. Volume racinaire des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

	Témoins	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration	0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Le volume racinaire (mm ³)	35±5	40±10 NS	48±9.85 NS	51±10.54 S	55.67±8.08 S	66.33±14.01 HS	87±16.09 HS

L'analyse statistique (**Tableau 12**) montre un effet non significatif sur le volume racinaire chez les plantes traitées par 0.5% de NaCl combiné avec 2000 et 2500 ppm de cuivre. Pour les doses 0.5% NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre et 3% NaCl combiné

avec 2000 ppm de cuivre, les résultats sont significatifs. Pour le traitement de 3% NaCl combiné avec 2500 ppm et de 3000 ppm de cuivre, l'effet est hautement significatif.

I-1-3 - Surface foliaire

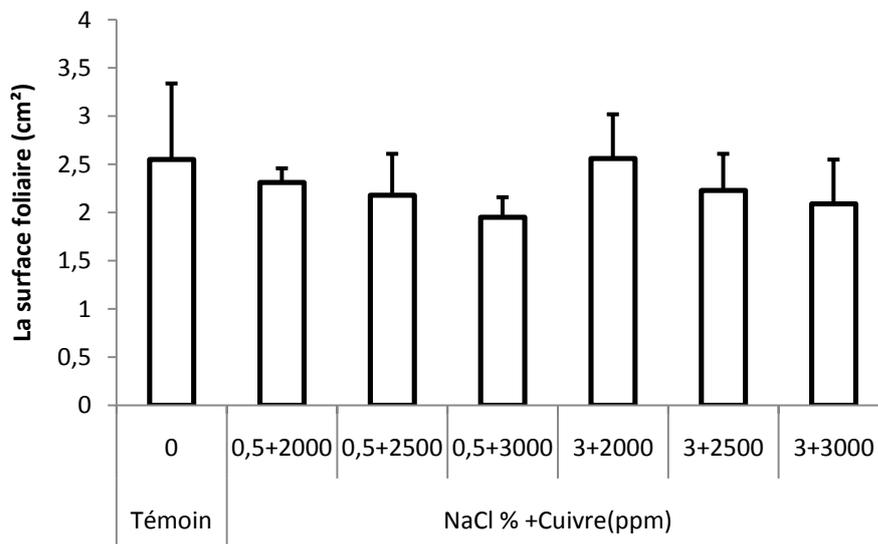


Figure 17. Surface foliaire des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

Les plantes stressées au 0.5% de NaCl combiné avec le cuivre ne montrent pas une grande différence sur la surface foliaire par rapport aux plantes témoins après la durée du stress, les valeurs moyennes de la surface foliaire obtenues chez les plantes témoins (figure 17) sont de 2.55 cm² et de 2.31, 2.18 et 1.95 cm² respectivement.

Pour les plantes stressées au 3% de NaCl combiné avec le cuivre, les résultats indiquent une perturbation des résultats par rapport aux plantes stressées à 0.5% de NaCl combiné avec le cuivre. En effet, cette surface varie à la baisse de 2.56 à 2.09 cm².

Tableau 13. Surface foliaire des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

	Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration	0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
La surface foliaire (cm ²)	2.55±0.79	2.31±0.15 NS	2.18±0.43 NS	1.95±0.21 NS	2.56±0.46 NS	2.23±0.38 NS	2.09±0.46 NS

L'étude statistique (**Tableau 13**) indique que la différence entre la surface foliaire des plantes sous traitement ne présente pas des effets significatifs par rapport au témoin après la durée du stress.

II-Paramètres hydriques

II-1 -La teneur en eau

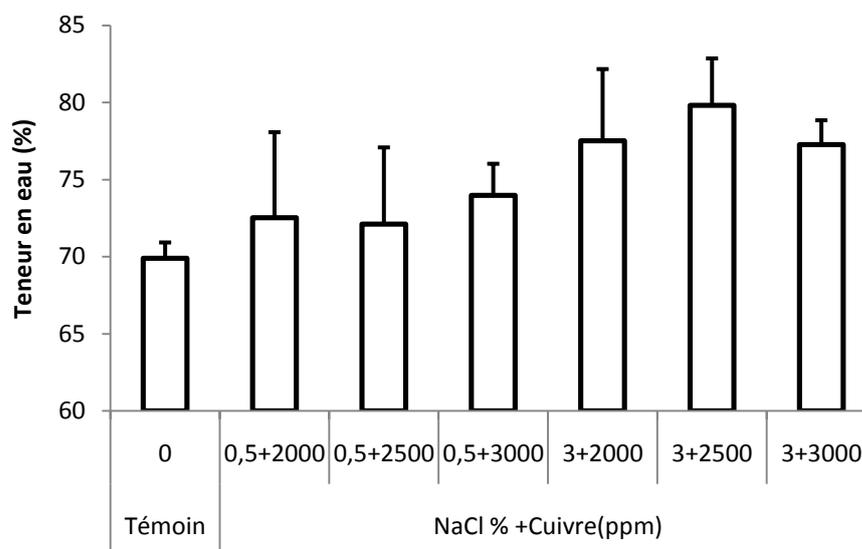


Figure 18. Teneur en eau des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

D'après les résultats de la **figure 18**, la teneur en eau ne présente pas de différence bien marquée chez les trois doses de 0.5% de NaCl combiné (2000, 2500 et 3000 ppm de cuivre) par rapport aux témoins. Pour le traitement de 3% NaCl avec le cuivre, on observe une légère augmentation de la teneur en eau, la teneur la plus élevée est marquée chez les plantes stressées au 3% NaCl combiné avec 2500 ppm de cuivre.

Tableau 14. Teneur en eau des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

	Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration	0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Le teneur en eau (%)	69.91±1.01	72.54±5.53NS	72.12±4.96 NS	73.98±2.04 NS	77.53±4.63 NS	79.82±3.03 NS	77.28±1.56 NS

L'analyse statistique de la variance (**Tableau 14**) du paramètre teneur en eau sous le stress des deux sels de NaCl combiné avec le cuivre a montré qu'il n'y a pas une différence significative.

II-2- Teneur relative en eau (RWC)

Selon les résultats mentionnés dans la figure 10, il résulte que la présence de NaCl combiné avec le cuivre dans le milieu de culture des plants a induit une diminution légère de la teneur relative en eau dans les traitements 0.5 et 3% de NaCl combiné avec 2000 et 2500 ppm de cuivre. Cependant, chez les plants stressés au 0.5% de NaCl combiné avec 2000 et 2500 ppm, cette teneur a varié de 81.73 à 77.88 % respectivement

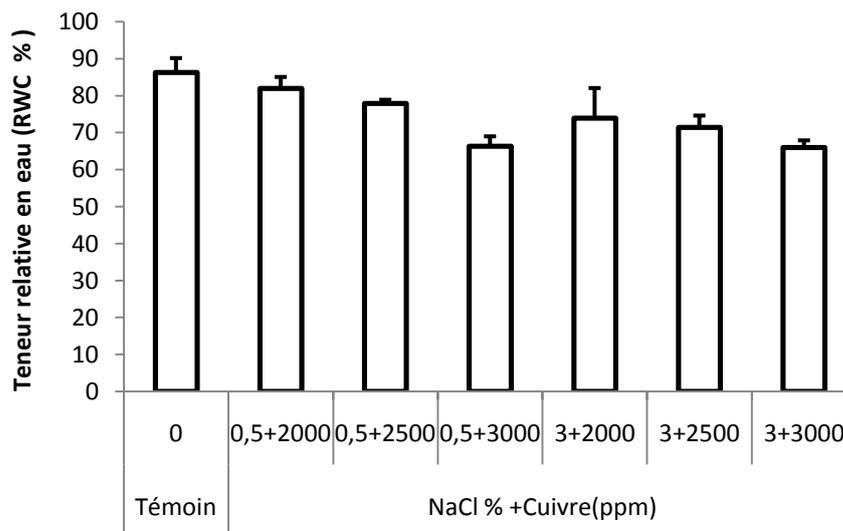


Figure 19. Teneur relative en eau (RWC%) des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

Alors qu'en présence de 3 % de NaCl combiné avec les mêmes doses de cuivre, ces valeurs ont baissé en enregistrant 73.90 et 71.4% respectivement. Le RWC le plus faible est enregistré chez les plantes stressées au 0.5 et 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm (avec des valeurs de 66.36 et 66.01%)

Tableau 15. Teneur relative en eau (RWC%) des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

	Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration	0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Le teneur relative en eau (RWC %)	86.3±3.89	81.93±3.16NS	77.88±1.05NS	66.36±2.67S	73.9±8.19NS	71.4±3.25S	66.01±1.9S

II -3-Perte d'eau par transpiration (RWL)

A -Sous 0.5 % de NaCl combiné avec 2000,2500 et3000 ppm de cuivre

Après 30 min, la quantité d'eau perdue après 30' par les plantes témoins ont été de (52.10^{-4} mg d'eau $.cm^{-2}.mn^{-1}$). Par contre, chez les plantes traitées au 0,5% de NaCl combiné avec le cuivre (2000, 2500 et 3000 ppm), le RWL a enregistré (48.10^{-4} , 43.10^{-4} et 38.10^{-4} mg d'eau $cm^{-2}.mn^{-1}$) respectivement.

Après 60 min, on remarque une diminution par rapport aux résultats précédents. Ces valeurs sont (34.10^{-4} , 30.10^{-4} et 27.10^{-4} mg d'eau $cm^{-1}.mn^{-1}$) respectivement sous l'effet de cuivre 2000, 2500 et 3000 ppm combiné avec 0.5% de NaCl consécutivement et comparativement au témoin (38.10^{-4} mg d'eau. $cm^{-2}.mn^{-1}$).

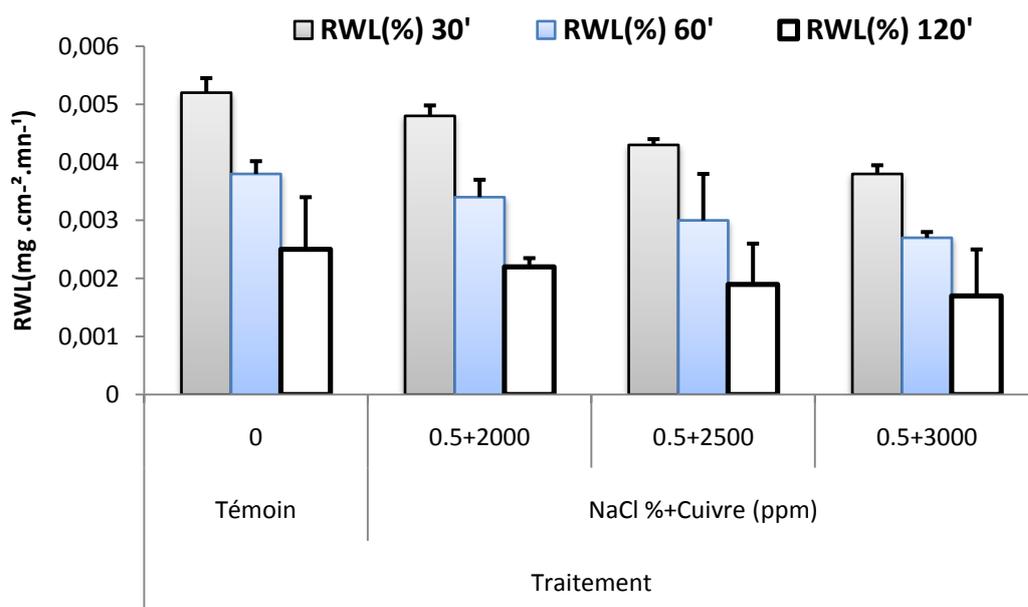


Figure 20. Perte d'eau par transpiration (RWL) après 30,60 et 120 mn chez *Atriplex canescens* stressé au 0.5% de NaCl combiné avec 2000, 2500 et 3000 ppm de cuivre.

Après 120 min, le RWL a été atténué par rapport à celui enregistré précédemment (après 30 min et 60 min), nous avons aussi relevé (22.10^{-4} , 19.10^{-4} et 17.10^{-4} mg d'eau $cm^{-1}.mn^{-1}$) respectivement par rapport aux plantes non stressées (25.10^{-4} mg d'eau $cm^{-1}.mn^{-1}$)

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 16. Perte d'eau par transpiration (RWL) après 30,60 et 120 mn chez *Atriplex canescens* stressé par 0.5 % de NaCl combiné avec 2000 ,2500 et 3000ppm de cuivre.

Concentration		RWLmgd'eau.cm ² .mn ¹		
		30 min	60 min	120 min
Témoin	0	0.0052±0.00025	0.0038±0.00022	0.0025±0.0009
NaCl % + Cuivre (ppm)	0.5 +2000	0.0037±0.00016 S	0.0018±0.0003 HS	0.0016±0.00015 NS
	0.5+ 2500	0.0029±0.0001 S	0.0019±0.0008 HS	0.0015±0.0007 S
	0.5+ 3000	0.0044±0.00015 NS	0.0026±0.0001 S	0.0025±0.0008 NS

Les résultats du (**Tableau 16**) indiquent que l'effet combiné du stress 0.5% de NaCl combiné avec 2000 et 2500 ppm de cuivre a donné des résultats significatifs après 30' sur la perte d'eau par transpiration (RWL) et hautement significatifs après 60', exception faite au niveau des feuilles des plantes stressées par 0.5 de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre. Les résultats sont non significatifs après 30' et 120 ' et significatifs après 60'

B - Sous 3% de NaCl combiné avec 2000,2500 et 3000 ppm de cuivre.

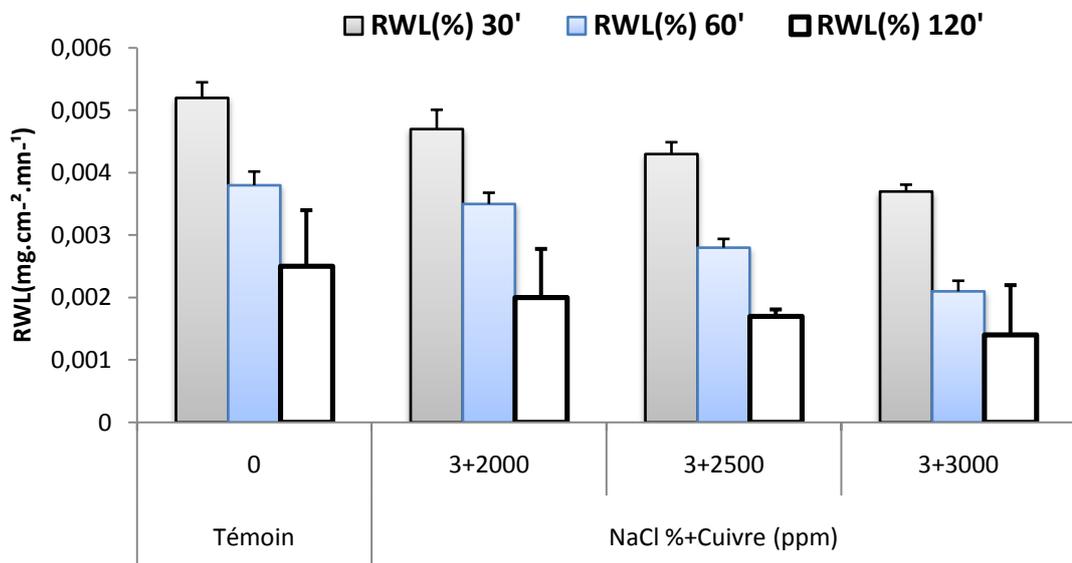


Figure 21. Perte d'eau par transpiration (RWL) après 30,60 et 120 mn chez *Atriplex canescens* stressé par 3 % de NaCl combiné avec 2000 ,2500 et 3000ppm de cuivre.

Après 30 min (**figure 21**), on remarque que les quantités d'eau perdues par les plantes soumises uniquement à la solution nutritive sont de l'ordre de 52.10^{-4} mg d'eau cm⁻²

$1.\text{mn}^{-1}$ par apport aux plantes stressées ayant une diminution de 47.10^{-4} , 43.10^{-4} et 37.10^{-4} mg d'eau $\text{cm}^{-1}.\text{mn}^{-1}$.

Tableau 17. Perte d'eau par transpiration (RWL) après 30,60 et 120 mn chez *Atriplex canescens* stressé par 0.5% de NaCl combiné avec 2000 ,2500 et 3000ppm de cuivre.

Concentration		RWLmgd'eau.cm ² .mn ⁻¹		
		30 min	60 min	120 min
Témoin	0	0.0052±0.00025	0.0038±0.00022	0.0025±0.0009
NaCl % + Cuivre (ppm)	3 +2000	0.0037±0.00016 S	0.0018±0.0003 HS	0.0016±0.00015 NS
	3+ 2500	0.0029±0.0001 S	0.0019±0.0008 HS	0.0015±0.0007 S
	3+ 3000	0.0044±0.00015NS	0.0026±0.0001 S	0.0025±0.0008 NS

Après 60 min, les valeurs obtenues après 60' ont montré une déperdition des eaux évaporées chez les plantes témoins (38.10^{-4} mg.cm⁻².mn⁻¹) et les plantes soumises au 3% NaCl combiné avec 2000 et 3000 ppm de cuivre par rapport aux plantes stressées au (3% NaCl combiné avec 2500 ppm) qui est de 35.10^{-4} , 28.10^{-4} et 21.10^{-4} mg d'eau.cm⁻¹.min⁻¹.

Après 120 min, la transpiration de l'eau chez les plantes témoins est 25.10^{-4} mg d'eau.cm⁻².mn⁻¹) et chez les plantes stressées au 3% NaCl combiné avec 2000, 2500 et 3000 ppm de cuivre, les valeurs sont diminuées 20.10^{-4} , 17.10^{-4} et 14.10^{-4} mg d'eau.cm⁻².mn⁻¹ consécutivement, par rapport aux résultats précédents.

Les données de l'analyse statistique (**Tableau 17**) signalent que l'effet de 3% de NaCl combiné avec 2000 et 2500 ppm de cuivre sur la perte d'eau par transpiration dans toutes les plantes est non significatif. Au niveau des feuilles des plantes stressées à 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre, l'effet est hautement significatif après 60'.

III - Paramètres biochimiques

I - 1- Protéines

Les résultats obtenus (**figure 22**) montrent une augmentation des protéines chez les feuilles des plantes stressées au 0.5% de NaCl combiné avec 2000, 2500, et 3000 ppm de cuivre par rapport au témoin. Pour les racines, on observe une augmentation de cette teneur avec l'augmentation des doses du cuivre combiné avec 0.5% de NaCl. Le taux le plus

RESULTATS ET DISCUSSION

élevé de protéines est observé à la dose de 0.5% de NaCl combiné avec 2000 ppm chez les feuilles et les racines des plantes par rapport aux témoins.

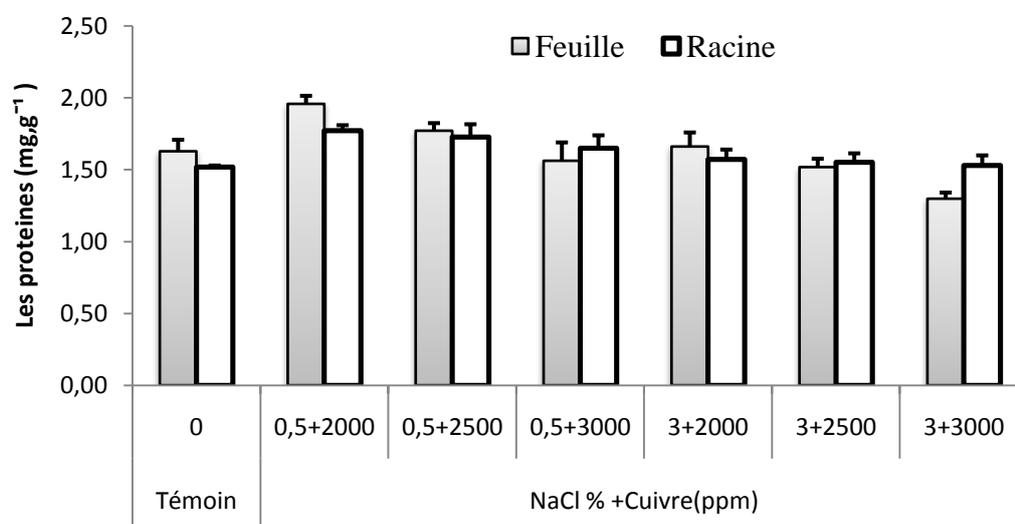


Figure 22. Teneur en protéines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au 3% de NaCl combiné avec le cuivre.

Les protéines dans les feuilles et les racines de l'*Atriplex canescens* augmente progressivement avec l'augmentation des doses de 3% de NaCl combiné avec le cuivre. La quantité en protéines est plus importante dans les feuilles que les racines sauf aux plantes stressées au 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre, le taux des protéines est plus élevé dans les racines que dans les feuilles (**Figure 22**)

Tableau 18. Teneur en protéines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au 3% de NaCl combiné avec le cuivre.

		Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration		0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Le teneur en protéine (mg.g ⁻¹)	Feuille	1.63±0.08	1.96±0.056 S	1.77±0.053S	1.56±0.08 NS	1.66±0.09 NS	1.52±0.058 NS	1.30±0.043 S
	Racine	1.52±0.01	1.77±0.04 S	1.73±0.09 S	1.65±0.08 NS	1.57±0.07 NS	1.55±0.06 NS	1.53±0.07 S

L'analyse statistique montre que l'accumulation de la teneur en protéines est significative dans les feuilles et les racines sous le traitement de 0.5% de NaCl combiné avec 2500 et 2500 ppm du cuivre et de 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre. Pour les autres, l'effet du stress est non significatif dans les racines.

III -2- Chlorophylle

III -2- a -Chlorophylle «a»

D'après les résultats obtenus (**figure 23**), la chlorophylle a diminué avec l'augmentation de la concentration des traitements dans les feuilles des plantes stressées au 0.5% de NaCl combiné avec le cuivre, on observe une diminution de 50% chez les feuilles des plantes traitées au 0.5% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre en les comparant aux plantes témoins.

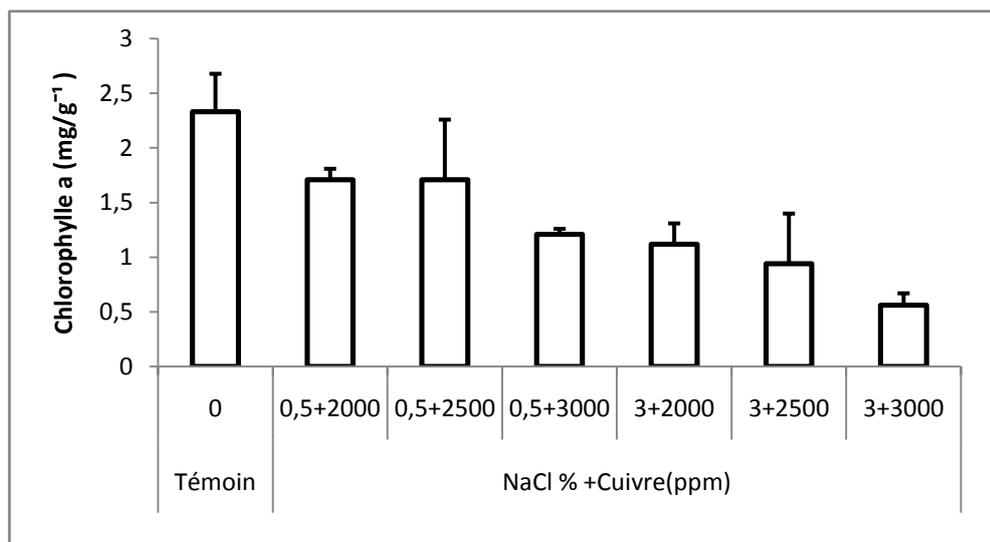


Figure 23. Teneur en chlorophylle a des feuilles des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

Pour les plantes stressées aux 3% de NaCl combiné avec le cuivre, la diminution de chlorophylle a est contenue jusqu'à 89% pour la dose de 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre par rapport au témoin

Tableau 19. Teneur en chlorophylle a des feuilles des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

	Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration	0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Chlorophylle «a» (mg.g ⁻¹)	2.33±0.35	1.71±0.1 HS	1.71±0.55 HS	1.21±0.05S	1.12±0.19HS	0.94±0.46HS	0.46±0.11HS

L'étude statistique montre que les différences de moyennes sont hautement significatives dans la majorité des feuilles de plantes stressées.

III -2- b - Chlorophylle «b»

La lecture des résultats moyens (**figure 24**) montre que la chlorophylle b diminue avec l'augmentation des doses du stress appliqué, lorsque le milieu de culture s'enrichit en 0.5% de NaCl combiné avec le cuivre, son taux passe 2.04 mg.g⁻¹ de MF dans les feuilles des plantes témoins à 1.18, 1.04 et 0.9 mg.g⁻¹ de MF respectivement dans les feuilles des plantes stressées par 0.5% combiné avec 2000, 2500 et 3000 ppm de cuivre.

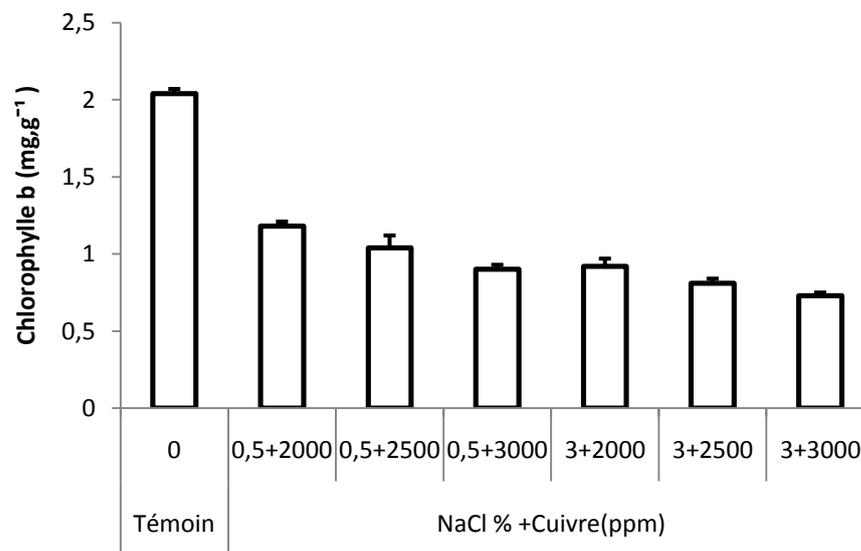


Figure 24. Teneur en chlorophylle **b** des feuilles des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

Au niveau des feuilles des plantes stressées par 3% de NaCl combiné avec le cuivre, les valeurs enregistrées restent en diminution en fonction du traitement. Le taux de la chlorophylle b diminue de 2.04 mg.g⁻¹ de MF pour les plantes non stressées à 0.92, 0.81 et 0.73 mg.g⁻¹ de MF pour celles traitées par NaCl 3% combiné avec 2000, 2500 et 3000 de cuivre.

Tableau20. Teneur en chlorophylle **b** des feuilles des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

	Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration	0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Chlorophylle(b) (mg.g ⁻¹)	2.04±0.03	1.18±0.03 HS	1.04±0.08 HS	0.9±0.03HS	0.92±0.05HS	0.81±0.03 HS	0.73±0.02 HS

L'étude statistique montre que la teneur en chlorophylle b dans les feuilles des plantes est hautement significative dans la majorité des feuilles de plantes stressées.

III -2- c - Chlorophylle «a+b»

- Effet combiné de la salinité et du cuivre

Les résultats obtenus (**figure 25**) montrent que la teneur en chlorophylle a+b dans les feuilles des plantes d'*Atriplex canescens* diminue avec l'augmentation du stress appliqué.

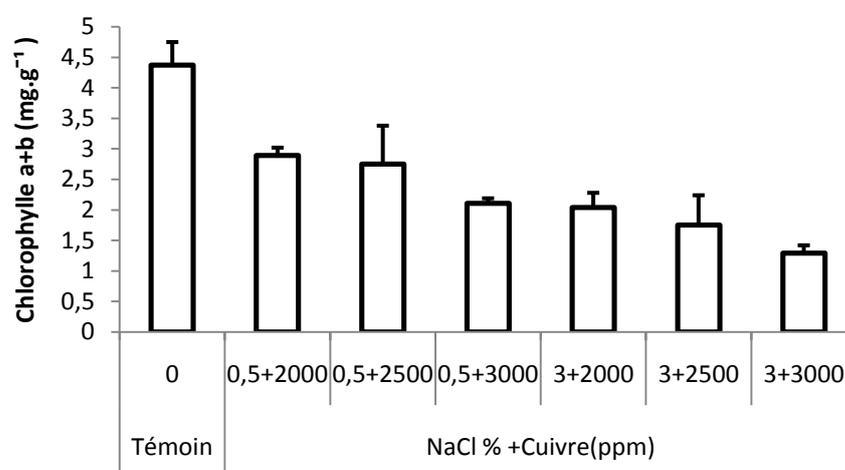


Figure 25. Teneur en chlorophylle a+b des feuilles plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

On obtient chez les plantes stressées par 3% de NaCl combiné avec le cuivre, une teneur moins élevée de chlorophylle «a+b» dans les feuilles comparativement au 0.5% de NaCl combiné avec le cuivre et aux témoins.

Tableau 21. Teneur en chlorophylle «a+b» des feuilles plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

	Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration	0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Chlorophylle (a+b) (mg.g ⁻¹)	4.37±037	2.89±0.13 HS	2.75±0.63 HS	2.11±0.08 HS	2.04±0.24 HS	1.75±0.49 HS	1.29±0.13 HS

L'analyse statistique montre que la teneur en chlorophylle a+b sous l'effet du stress appliqué est hautement significative dans les feuilles des plantes.

III -3- Sucres solubles

Les résultats obtenus (**figure 26**) montrent que le taux des sucres solubles dans les parties aériennes et racinaires augmente avec l'augmentation de la concentration du stress appliqué. Pour les concentrations de 0.5% de NaCl combiné avec le cuivre, l'accumulation des sucres au niveau des feuilles est plus élevée que celle des racines. La même observation est marquée chez les plantes stressées par 3% de NaCl combiné avec les différentes concentrations du cuivre (2000, 2500, et 3000 ppm)

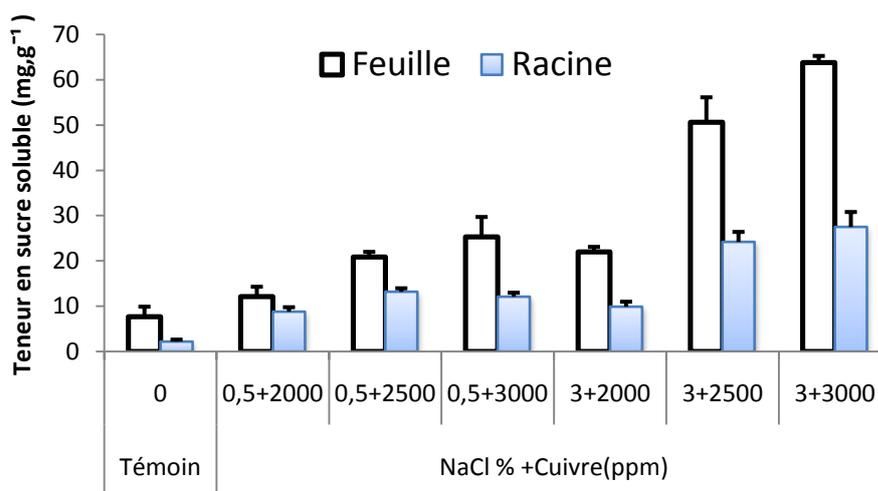


Figure 26. Teneur en sucres solubles dans les feuilles et racines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

Les valeurs les plus élevées enregistrées sont 50.6 et 63.8 mg.g⁻¹ chez les feuilles des plantes stressées par (3% de NaCl + 2500 ppm) et (3% de NaCl + 3000 ppm) du cuivre respectivement par rapport aux plantes témoins et les autres plantes stressées.

Tableau 22. Teneur en sucres solubles dans les feuilles et racines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

		Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration		0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Sucre soluble (mg.g ⁻¹)	Feuille	7.7±2.2	12.1±2.2 HS	20.9±1.1HS	25.3±1.4 HS	22±1.1HS	50.6±5.5HS	63.8±1.43HS
	Racine	2.2±0.44	8.8±0.99 HS	13.2±0.77HS	12.1±0.88 HS	9.9±1.1HS	24.2±2.2HS	27.5±3.3HS

L'analyse statistique révèle que les teneurs en sucres solubles accumulées dans les feuilles et racines de *Atriplex canescens* sont hautement significatives par rapport aux feuilles et racines des plantes témoins.

III -4- Teneurs en Proline

a- Effet combiné de la salinité et du cuivre

Les résultats obtenus (**figure 27**) montrent que l'accumulation de la proline chez les plantes stressées augmente en fonction de l'intensité du stress appliqué, cette accumulation est plus élevée dans les feuilles que dans les racines, ce qui représente une augmentation de 45% que celle enregistrée dans les racines.

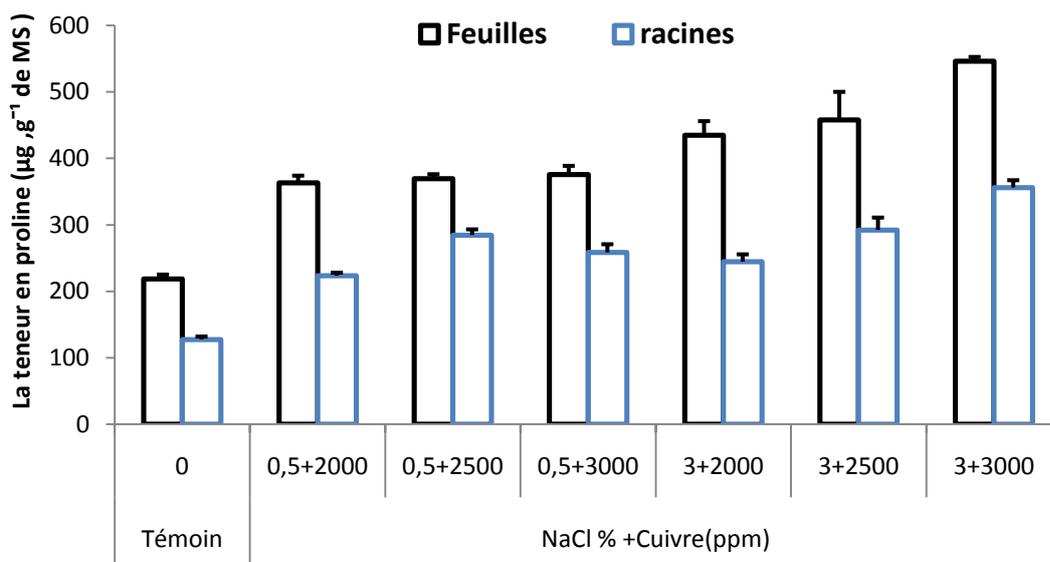


Figure 27. Teneur en proline dans les feuilles et les racines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

La teneur la plus élevée en proline est enregistrée à la dose de 3000 ppm de cuivre combiné avec 0.5% de NaCl (375.9 µg.g⁻¹ poids sec) pour les feuilles. Par contre, la teneur la plus élevée en proline chez les racines est enregistrée à la dose de 2500 ppm de cuivre combiné avec 0.5% de NaCl (284.5 µg.g⁻¹ poids sec). Les feuilles et les racines des plantes témoins représentent la teneur en proline la plus faible.

On note que la teneur en proline dans les feuilles et les racines des plantes augmente proportionnellement avec les doses du cuivre appliquées (**figure 27**), la teneur la plus élevée en proline est enregistrée chez les feuilles des plantes à la dose de 3000 ppm de cuivre combiné à 3% de NaCl (546 µg.g⁻¹ poids sec). La teneur la plus faible en proline est observée chez les feuilles des plantes non stressées (218.4 µg.g⁻¹ poids sec).

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 23. Teneur en proline dans les feuilles et les racines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

		Témoïn	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration		0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Teneur en proline ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Feuille	218.4 \pm 6.6	363.3 \pm 10.5 HS	269.6 \pm 6.3 HS	375.9 \pm 12.6 HS	334.7 \pm 21HS	457.7 \pm 42HS	546 \pm 6.3 HS
	Racine	127.4 \pm 4.4	323.3 \pm 4.5 HS	284.5 \pm 8.4HS	258.4 \pm 12.2 HS	244.5 \pm 10.9 HS	292.2 \pm 18.5HS	356 \pm 10.9HS

On obtient, chez les racines des plantes stressées, la teneur la plus élevée de la proline à la dose de 3000 ppm de cuivre combiné avec 3% de NaCl (356.0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ poids sec). L'analyse statistique révèle un effet hautement significatif de la teneur en proline chez les feuilles et les racines des plantes stressées par rapport aux témoins.

V - Antioxydants

V – 1 - Polyphénols

Les résultats montrent une augmentation des taux des polyphénols dans les feuilles des plantes stressées à 2000, 2500 et 3000 ppm combinée avec 0.5% de NaCl (159, 178 et 178 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ poids sec respectivement) par rapport aux feuilles des plantes témoins 31 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ PS (figure 28).

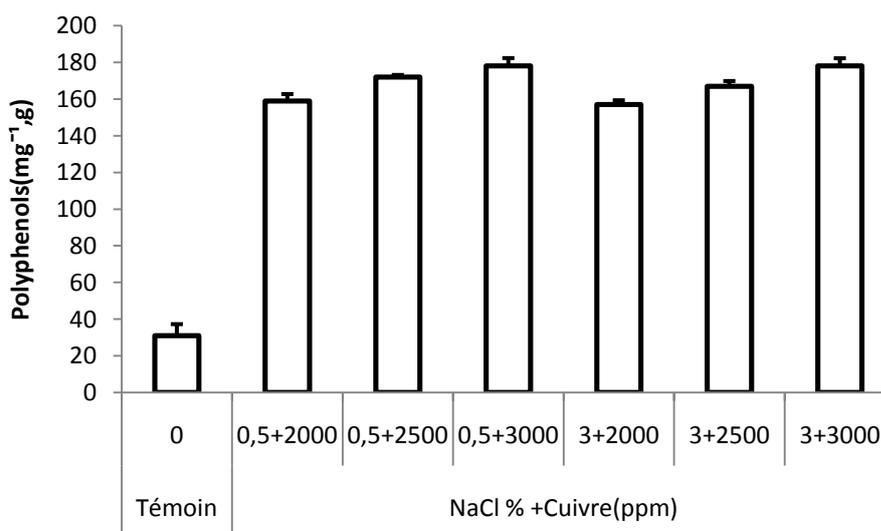


Figure 28. Teneur en polyphénols ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de poids sec) des feuilles d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

Les résultats obtenus chez les feuilles des plantes d'*Atriplex canescens* Pursh Nutt montrent que les feuilles des plantes stressées sont plus riches en polyphénols comparativement aux feuilles des plantes témoins, ce qui se traduit par une augmentation des taux de polyphénols dans les feuilles des plantes stressées à 2000, 2500 et 3000 ppm de cuivre combiné avec 3% de NaCl (157, 167 et 178 mg.g⁻¹ poids sec respectivement) par rapport aux plantes témoins (31 mg.g⁻¹ poids sec) (**Figure 28**).

Tableau 24. Teneur en polyphénols (mg.g⁻¹ de poids sec) des feuilles d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

	Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration	0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Polyphénols (mg.g ⁻¹)	31±6.4	159±3.8 HS	172±1.2 HS	178±4.4 HS	157±2.4 HS	167±2.9 HS	178±4.3 HS

L'analyse des résultats indique un effet significatif de cuivre combiné avec 0.5% de NaCl sur le taux de polyphénols. Pour le cuivre combiné avec 3% de NaCl, l'analyse de la variance révèle un effet hautement significatif

V- 2 -Teneurs en flavonoïdes

Les résultats obtenus sous les traitements 0, 2000 et 2500 ppm de cuivre combiné avec 0.5% de NaCl ne présentent aucune variation significative sur la teneur en flavonoïdes chez les feuilles des plantes (**figure 29**). Par contre, pour les feuilles des plantes stressées à 3000 ppm de cuivre combiné avec 0.5% de NaCl, les résultats montrent une augmentation de la teneur en flavonoïdes, avec un taux de 163 mg.g⁻¹ poids sec.

RESULTATS ET DISCUSSION

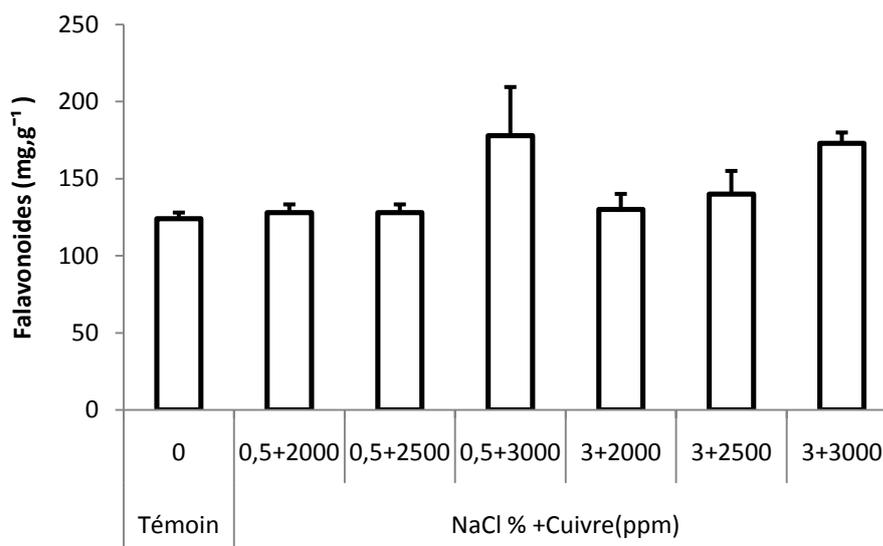


Figure 29. Teneur en flavonoïdes (mg.g⁻¹ de poids sec) des feuilles d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

Pour le traitement 3% de NaCl combiné avec le cuivre, les résultats montrent que les teneurs en flavonoïdes chez les feuilles des plantes stressées augmentent proportionnellement avec l'augmentation des doses combinées du cuivre et du sel (**figure 29**). Le taux des flavonoïdes des feuilles des plantes passent de 124 mg.g⁻¹ PS pour le témoin à 130 et 141 mg.g⁻¹ poids sec respectivement pour les doses de 2000 et 2500 ppm de cuivre combiné avec 3% de NaCl. Par contre, le taux le plus élevé est enregistré à la dose de 3000 ppm de cuivre combiné avec 3% de NaCl (173 mg.g⁻¹ poids sec).

L'analyse statistique montre un effet hautement significatif sur la teneur en flavonoïdes chez les feuilles des plantes stressées à 3000 ppm de cuivre combiné avec 0.5% de NaCl par rapport aux plantes stressées à 2000, 2500 ppm et 0 ppm de cuivre combiné avec 0.5 % de NaCl.

Tableau 25. Teneur en flavonoïdes (mg.g⁻¹ de poids sec) des feuilles d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

	Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration	0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Flavonoïdes (mg. g ⁻¹)	124±1	128±5.3. NS	128±4.3 NS	178± 31.4 HS	130±10.1 S	141± 15 S	173± 9.6 HS

L'analyse statistique montre aussi un effet hautement significatif à 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre, par contre, l'effet est significatif pour les doses de 2000 et 2500 ppm de cuivre combiné avec 3% de NaCl comparativement aux feuilles des plantes témoins.

VI -Les minéraux

VI- 1 – Teneur en sodium :

- Effet combiné de la salinité et du cuivre

Les résultats de la **figure 30** montrent que, pour les plantes d'*Atriplex canescens*, le Na^+ tend à migrer vers le système foliaire. Ce cation s'accumule d'avantage lorsque le milieu de culture s'enrichit en 0.5% de NaCl combiné avec le cuivre, son taux passe de 11.96 mg.g^{-1} de MS dans les feuilles des plantes témoins à 10.96 et 11 mg.g^{-1} de MS respectivement dans les feuilles des plantes nourries à 0.5 % de NaCl combiné avec 2000 et 3000 ppm de cuivre (**Tableau 26**).

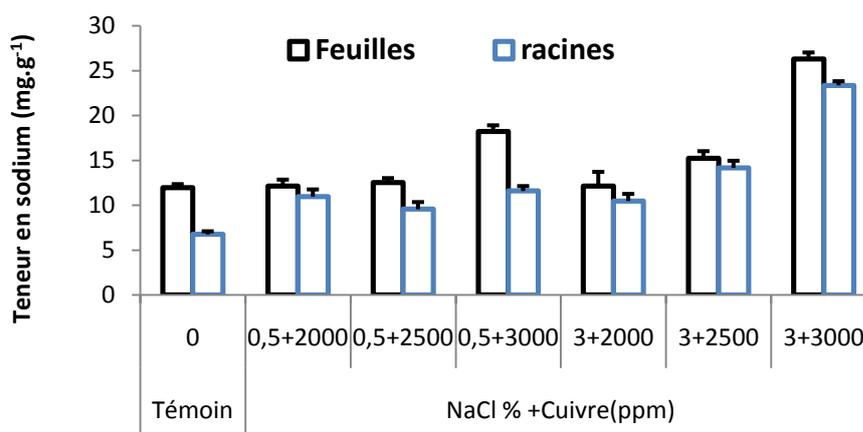


Figure 30. Teneur en sodium dans les feuilles et racines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

Ce taux est augmenté de 1.02% à 27% chez les plantes traitées par 3% de NaCl combiné avec 2000 et 3000 ppm de cuivre respectivement par rapport aux témoins. Les valeurs enregistrées pour l'accumulation de sodium au niveau des racines ont tendance à augmenter également en fonction du niveau de salinité combiné avec le cuivre. La teneur en sodium la plus élevée dans les feuilles et les racines est obtenue à la dose de 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm (26.31 et 23.36 mg.g^{-1}).

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 26. Teneur en sodium dans les feuilles et racines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

		Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration		0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Sodium (mg.g ⁻¹)	Feuille	11.96 ± 0.4	12.14 ± 0.72NS	12.51 ± 0.52NS	18.21 ± 0.7 S	12.13 ± 1.6S	15.22 ± 0.81HS	26.31 ± 0.71HS
	Racine	6.75 ± 0.36	10.96 ± 0.81HS	9.56 ± 0.8HS	11.59 ± 0.55HS	10.48 ± 0.79 HS	14.16 ± 0.8HS	23.36 ± 0.46HS

L'analyse statistique montre un effet hautement significatif chez les racines. Par contre, l'effet est non significatif chez les feuilles sous traitement des doses de 0.5% de NaCl combiné avec 2000 et 2500 ppm de cuivre comparativement aux feuilles des plantes témoins. Pour les feuilles des plantes stressées par 3% de NaCl combiné avec 2000 et 2500 ppm de cuivre, l'effet est hautement significatif.

VI - 2 - Teneur en potassium

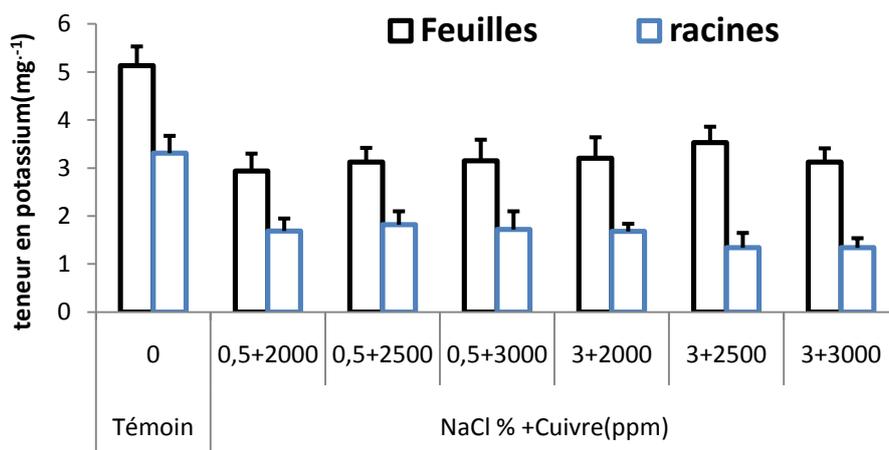


Figure 31. Teneur en potassium dans les feuilles et racines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

Les résultats obtenus chez les plantes d'*Atriplex canescens*, mentionnés dans le **figure 31** montrent une légère augmentation dans le sens témoin, 3% de NaCl combiné avec le cuivre aussi bien au niveau des feuilles que dans les racines. Cependant, les taux pour ce cation varient selon l'organe et le milieu salin. En effet, chez les plantes témoins, le taux de K⁺ dans les feuilles passe de 5.13 mg.g⁻¹ de MS à 1.68 mg.g⁻¹ de MS pour le traitement 3% de NaCl combiné avec 2000 ppm de cuivre et à 3.53 mg.g⁻¹ de MS pour le traitement 3% de NaCl combiné avec 2500 et 3000 ppm.

Au niveau des racines, ce taux demeure plus bas que pour celui des feuilles, l'addition du sel n'accuse pas un changement dans les taux de cet élément. Chez les racines, le taux de potassium passe de 3.31 mg.g⁻¹ de MS pour les plantes arrosées à la solution nutritive à 1.68 mg.g⁻¹ de MS dans le milieu à 3% de NaCl combiné avec 2000 ppm de cuivre à 1.34 mg.g⁻¹ MS dans le milieu à 3% de NaCl combiné avec 2500 et 3000 ppm de cuivre.

Tableau 27. Teneur en potassium dans les feuilles et racines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

		Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
Concentration		0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Potassium (mg.g ⁻¹)	Feuille	5.13 ± 0.4	2.94±0.36 HS	3.12 ± 0.3 HS	3.15 ±0.44 HS	3.2 ± 0.44 HS	3.53 ± 0.33 HS	3.12 ± 0.29 HS
	Racine	3.31 ± 0.36	1.69 ± 0.26 HS	1.82 ± 0.28 HS	1.72 ± 0.38 HS	1.68±0. 16 HS	1.34 ± 0.31 HS	1.34 ± 0.2 HS

En ce qui concerne les feuilles et les racines stressées par 3% de NaCl combiné avec 2000 ppm de cuivre, la teneur en K⁺ présente une légère diminution, elle passe de 5.13 mg.g⁻¹ de MS pour les plantes témoins à 2.94 mg.g⁻¹ de MS et 1.72 mg.g⁻¹ de MS pour les traitements respectifs 2000 et 3000 ppm de cuivre combiné avec 0.5% de NaCl, les teneurs les plus élevées sont enregistrées chez les feuilles et les racines des plantes stressées par 0.5% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre (3.15 et 1.72 mg.g⁻¹) respectivement.

L'effet du traitement salin au 0.5 et 3% de NaCl combiné avec le cuivre sur le taux de potassium des plantes d'*Atriplex canescens* analysé statistiquement (**Tableau 27**) indique que l'action sur les feuilles et les racines est hautement significative.

V I- 3- Teneurs en cuivre

D'après les résultats, l'augmentation de la concentration de cuivre dans le milieu s'accompagne d'une forte augmentation des teneurs en cuivre, aussi bien dans les feuilles que dans les racines des plantes stressées (**Figure 32**). En effet, on enregistre une importante des teneurs foliaires en cuivre de 3.85 mg/g pour les plantes sous 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre.

RESULTATS ET DISCUSSION

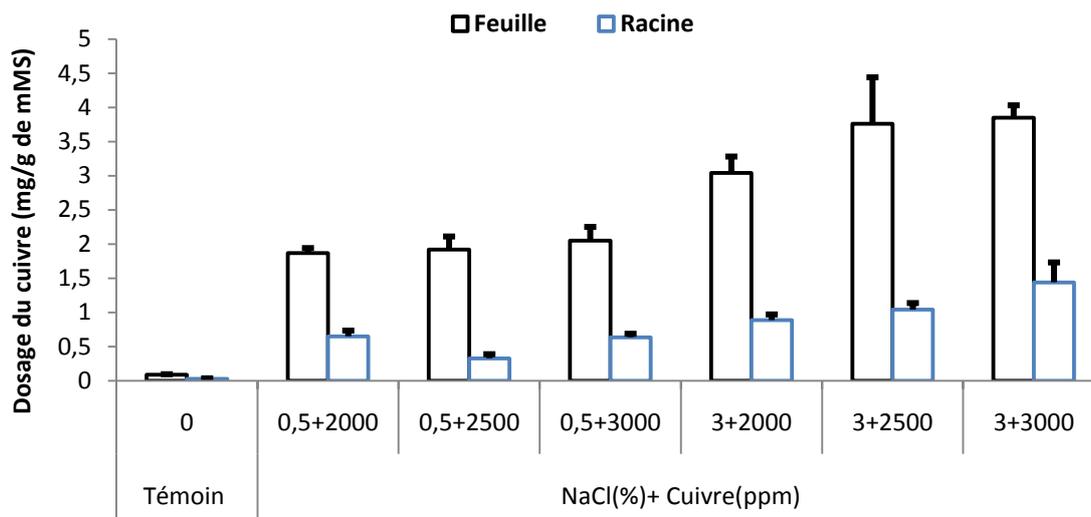


Figure 32. Dosage du cuivre dans les feuilles et racines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre.

Au niveau des racines, cette accumulation est de 1.44 mg/g, on note une différence d'accumulation de cuivre chez les autres plantes stressées, cette différence est observée dans toutes les conditions de stress étudiées. La plus faible accumulation de cuivre est obtenue dans le témoin avec 0.089 mg/g pour les feuilles et 0.029 mg/g pour les racines.

Tableau 28. Dosage du cuivre dans les feuilles et racines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées au NaCl combiné avec le cuivre

Concentration		Témoin	0.5 % de NaCl+ Cuivre (ppm)			3 % de NaCl+ Cuivre (ppm)		
		0	2000	2500	3000	2000	2500	3000
Cuivre (mg.g ⁻¹)	Feuille	0.089± 0.0025	1.87± 0.07HS	1.92 ± 0.19 HS	2.05 ±0.2HS	3.04 ±0.24HS	3.76 ± 0.68HS	3.85 ± 0.18 HS
	Racine	0.029 ± 0.0037	0.65 ± 0.082HS	0.32 ± 0.06HS	0.636 ± 0.05 HS	0.886±0.083HS	1.04 ± 0.095HS	1.44 ± 0.029 HS

L'analyse statistique montre un effet hautement significatif chez les feuilles et racines des plantes stressées

VII : Relation entre les osmorégulateurs et les antioxydants

1. Relation entre proline et les polyphénols

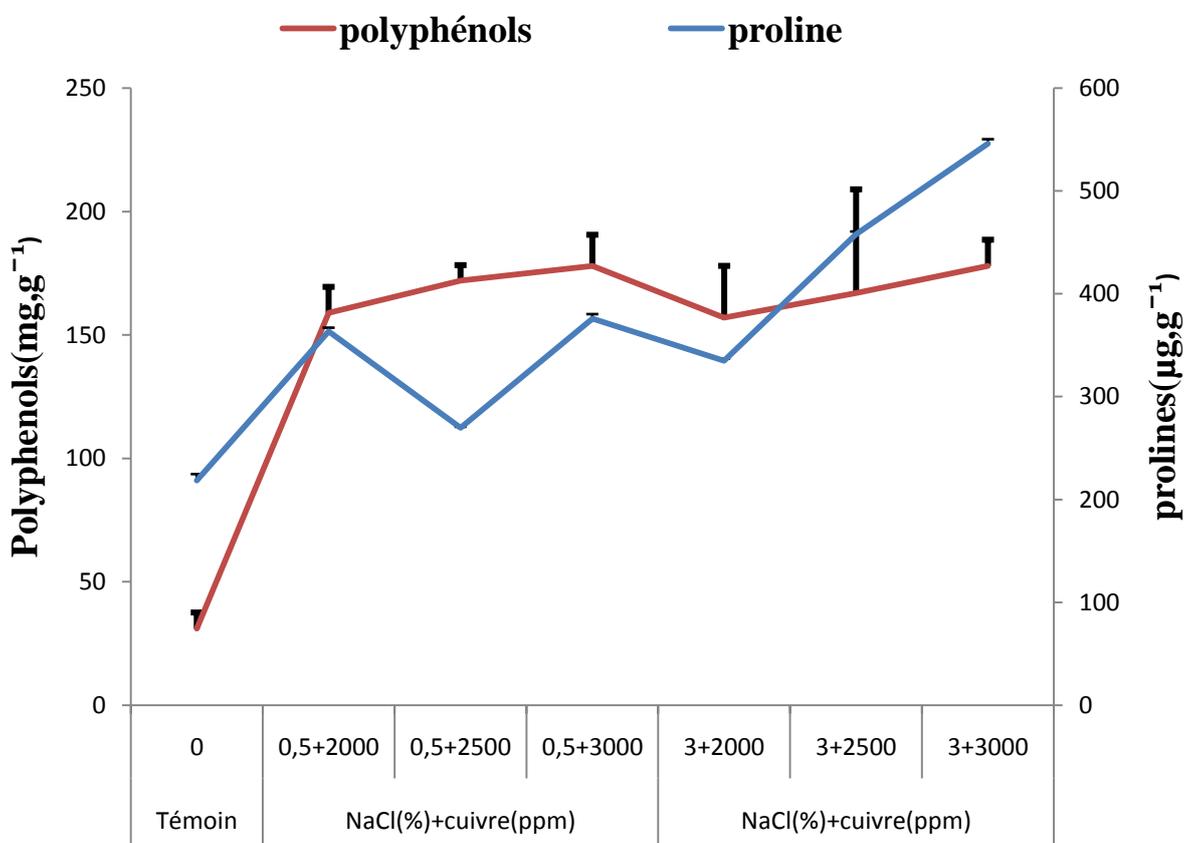


Figure33. Relation entre la proline et polyphénols des feuilles d'*Atriplex canescens* sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.

D'après les résultats (figure 33), la teneur en proline chez les feuilles des plantes stressées est largement supérieure à celle des plantes témoins, ce qui représente une augmentation de 70.99% de teneur en proline que celle enregistrée dans les témoins. Pour les mêmes concentrations des doses de stress appliquées, l'augmentation des polyphénols au niveau des feuilles est plus élevée que celle les témoins.

L'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative pour les feuilles des plantes stressées par rapport aux feuilles témoins.

2. Relation entre proline et les flavonoïdes

Les résultats trouvés (**Figure. 34**) pour les plantes stressées au sel combiné avec le cuivre à différentes concentrations (0.5 et 3 % de NaCl combiné avec 2000, 2500, et 3000 ppm du cuivre), révèlent une augmentation de proline et flavonoïdes chez les feuilles des plantes stressées de l'*Atriplex canescens*. Les teneurs obtenues en proline et flavonoïdes sont plus élevées dans les feuilles des plantes stressées par 0.5 et 3 % de NaCl combiné avec, et 3000 ppm de cuivre.

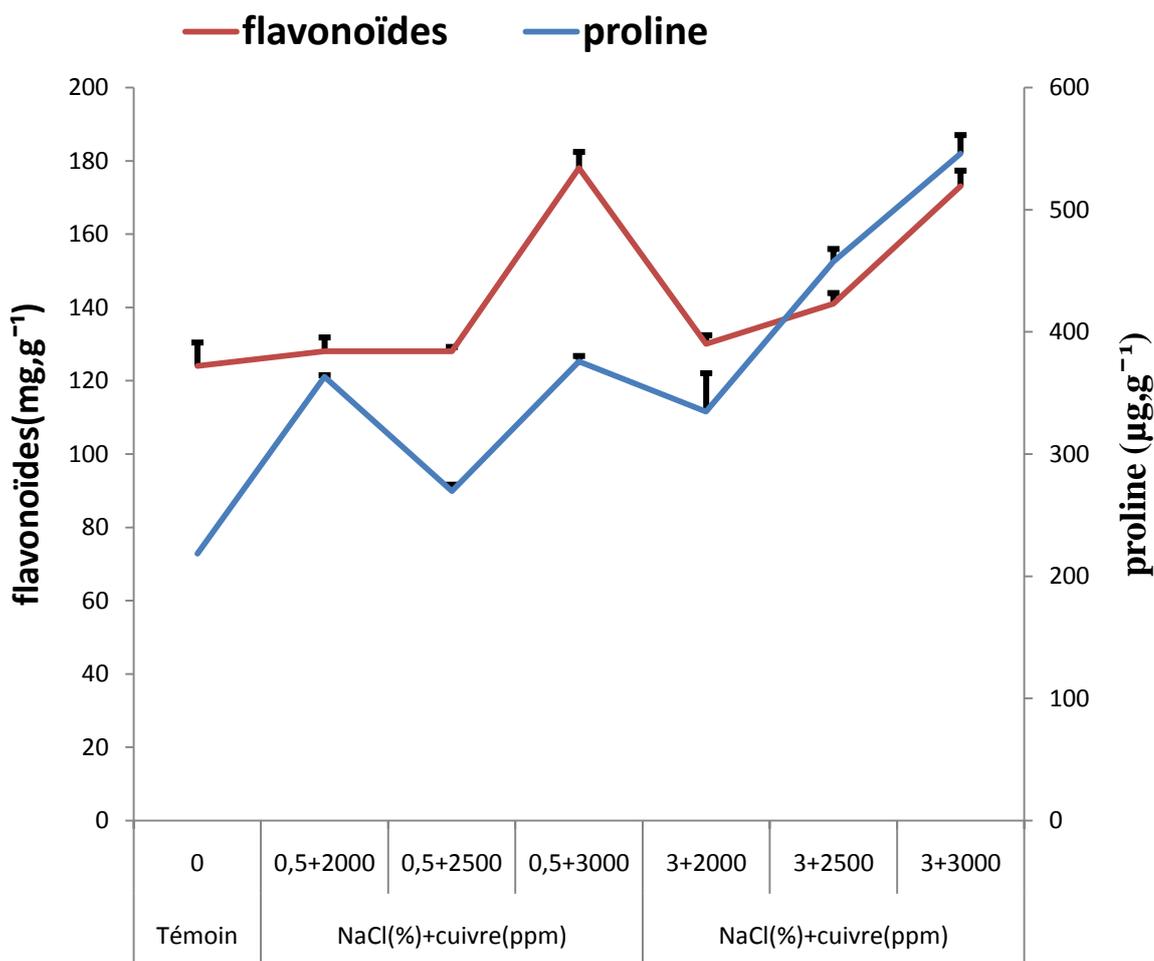


Figure34. Relation entre proline et les flavonoïdes des feuilles d'*Atriplex canescens* sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.

L'analyse statistique à l'aide du test de Newman-Keuls à P = 5% révèle que les teneurs en proline et flavonoïdes dans les feuilles de l'*Atriplex canescens* sont hautement significatives (P = 0.00) par rapport aux feuilles des plantes témoin

3. Relation entre proline et les antioxydants

D'après les résultats obtenus (**figure 35**), il ressort que la proline et les antioxydants (polyphénols et flavonoïdes) des feuilles d'*Atriplex canescens* sont augmentés d'une manière significative ($P \leq 0,01$). L'effet du sel combiné avec le cuivre sur l'accumulation de proline est plus important dans les doses de 0.5% et 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm par rapport aux autres doses et même les plantes témoins, cette accumulation étant en relation avec la synthèse des antioxydants (polyphénols et flavonoïdes) dans les feuilles des plantes stressées.

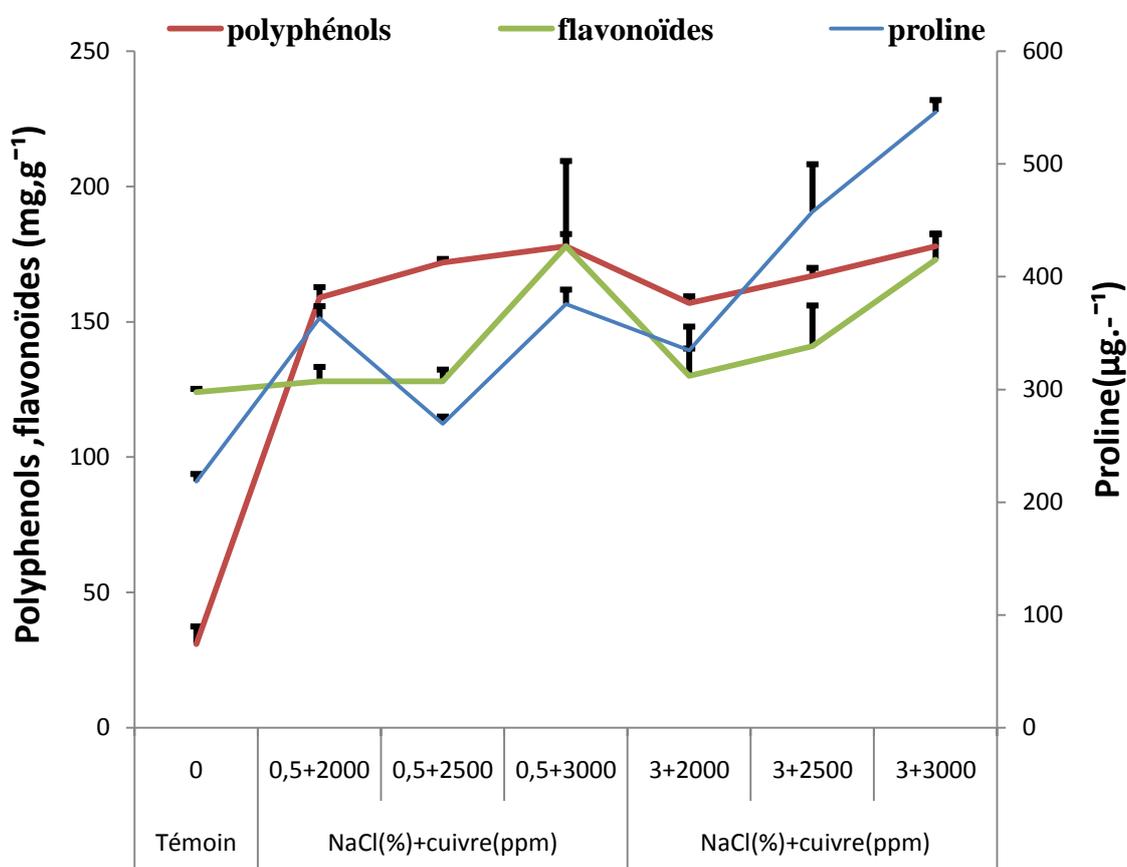


Figure 35. Relation entre proline, polyphénols et les flavonoïdes des feuilles d'*Atriplex canescens* sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre

On constate que l'effet des sels, combinés avec le cuivre, exerce une accumulation de la proline, cette accumulation poussant l'augmentation des taux de polyphénols et flavonoïdes dans les feuilles des plantes stressées

L'étude statistique montre un effet hautement significatif du stress appliqué sur l'accumulation de la proline et les taux des antioxydants dans les feuilles par rapport aux plantes témoins.

4. Relation entre les sucres solubles et les polyphénols

Les résultats de la **figure 36** indiquent que le taux de polyphénols et sucre soluble est important dans les feuilles de l'*Atriplex canescens* sous les doses (0.5% de NaCl combiné avec 2000, 3000 ppm du cuivre et 3 % de NaCl combiné avec 2000, 3000 ppm du cuivre). Ces résultats montrent une corrélation positive entre l'augmentation des doses du stress appliquée à l'accumulation de la prolines et les taux de polyphénols.

La teneur en proline et polyphénols les plus élevés dans les feuilles est obtenue à la dose de 3 % de NaCl combiné avec 3000 ppm.

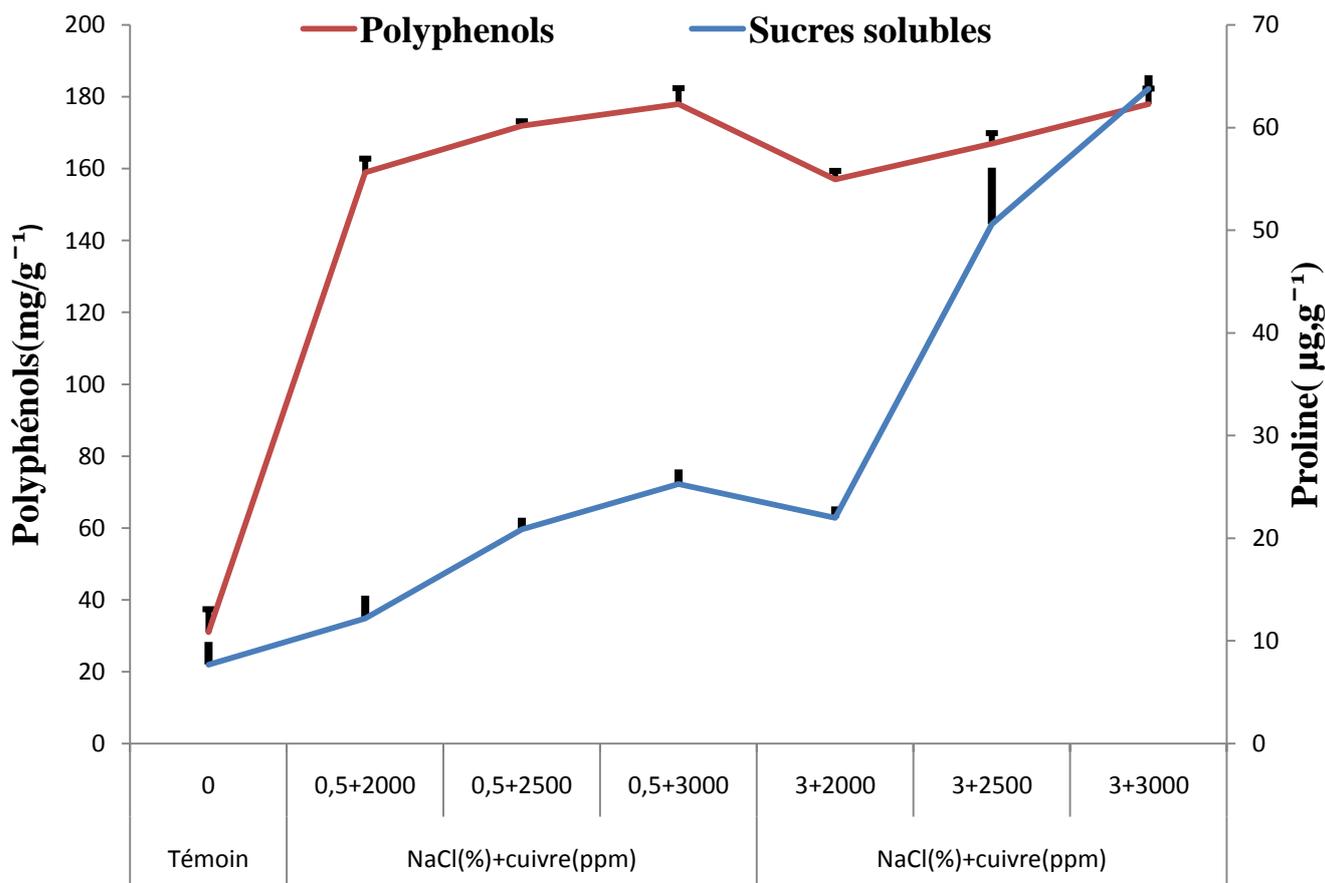


Figure 36. Relation entre les sucres solubles et les polyphénols des feuilles d'*Atriplex canescens* sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre

L'analyse statistique montre un effet non significatif sur l'accumulation de la proline et le taux des polyphénols dans les feuilles de la plante pour toutes les doses appliquées de stress combiné.

5. Relation entre les Sucres solubles et les flavonoïdes

Les résultats mentionnés dans la **figure37** montrent que le stress appliqué à la plante entraîne une augmentation des sucres et flavonoïdes dans les feuilles à (0.5% de NaCl combiné avec 3000 ppm du cuivre et 3 % de NaCl combiné avec 2000, 3000 ppm du cuivre), par rapport au témoin et les autres doses. Le sucre soluble et les flavonoïdes à la dose de 3 % de NaCl combiné avec, 3000 ppm de cuivre sont plus élevés dans les feuilles des plantes stressées.

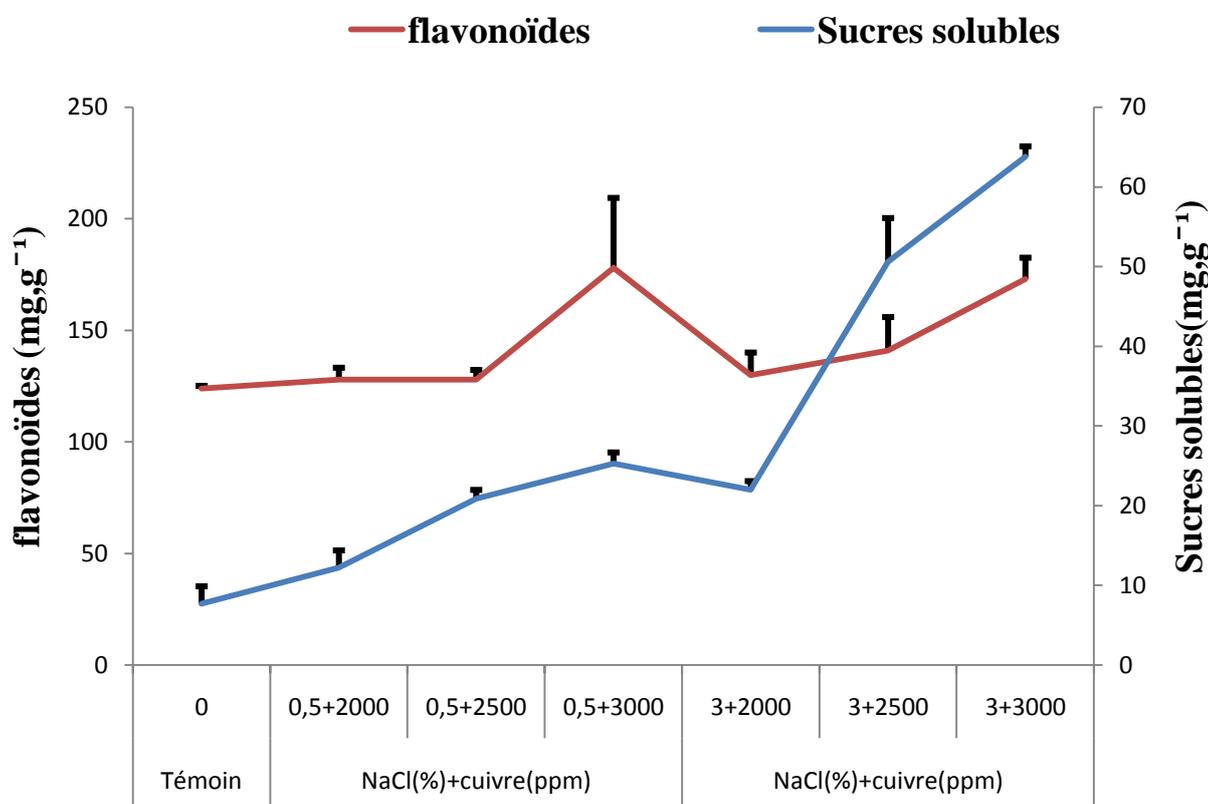


Figure 37. La relation entre les sucres solubles et les flavonoïdes des feuilles d'*Atriplex canescens* sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.

L'étude statistique montre un effet hautement significatif de sel combiné avec le cuivre sur l'accumulation des sucres solubles et le taux des flavonoïdes dans les feuilles des plantes stressées par rapport au témoin et les autres traitements.

6. Relation entre les Sucres solubles, les polyphénols et flavonoïdes

A la lumière de nos résultats, nous pouvons constater que le rendement le plus élevé des sucres solubles et antioxydants (polyphénols et flavonoïdes) se situe au niveau des plantes sous les doses de 3% de NaCl combiné avec 2500 et 3000 de cuivre (**figure 38**).

On remarque que la teneur en polyphénols et en flavonoïdes augmente au fur et à mesure que les sucres solubles augmentent chez les plantes stressées.

L'accumulation des sucres solubles dans les feuilles augmente avec les doses du stress appliquées. Les sucres solubles et les antioxydants (polyphénols .flavonoïdes) sont plus élevés à la dose de 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre par rapport aux autres traitements et les témoins.

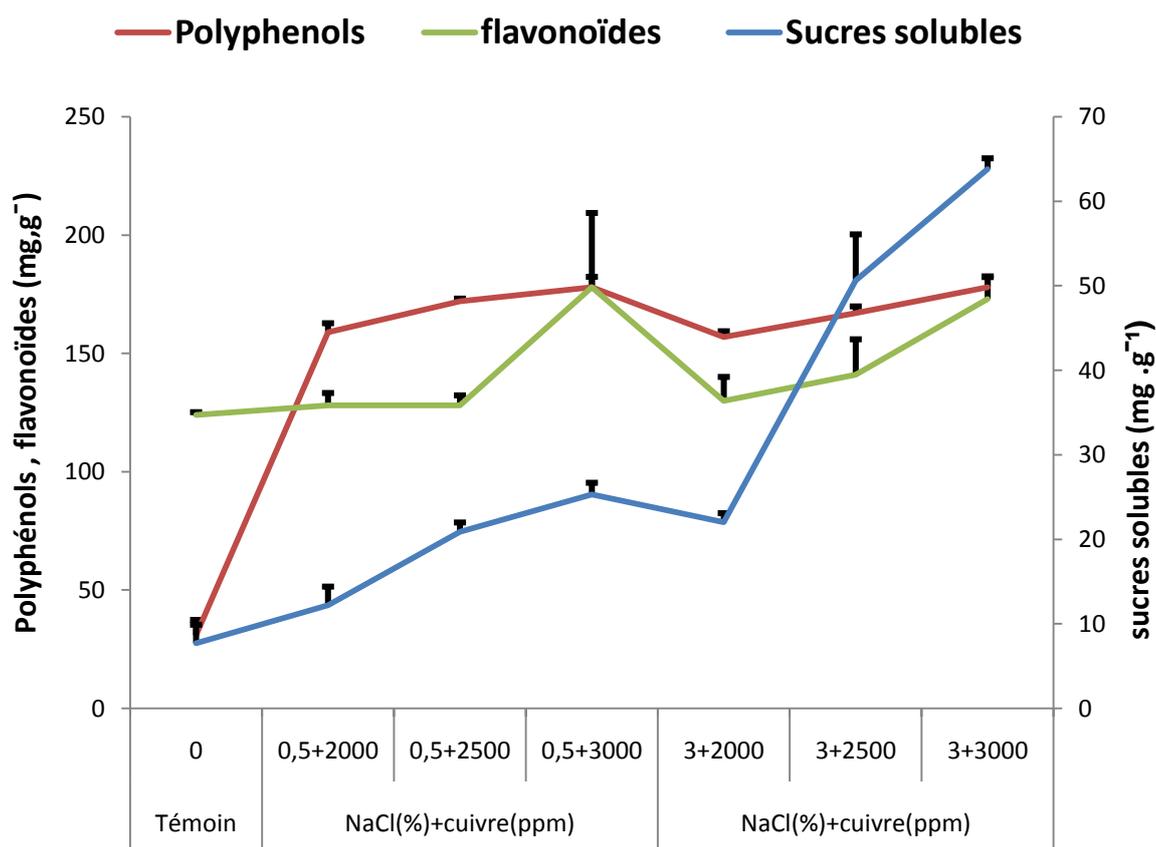


Figure 38. Relation entre les sucres solubles, polyphénols et les flavonoïdes des feuilles d'*Atriplex canescens* sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre

L'analyse statistique montre que l'augmentation des sucres solubles avec les antioxydants est hautement significative dans les feuilles par rapport aux témoins

7. Relation entre les protéines et les polyphénols

Après la durée de stress en présence du sel combiné avec le cuivre, la teneur en protéines diminue d'une façon significative pour les doses 0.5 et 3% de NaCl combiné avec 3000ppm de cuivre, (**Figure 39**) par contre, après la même durée de stress (30jours) en présence du sel combiné avec le cuivre, la teneur des polyphénols augmente d'une façon hautement significative ($P < 0.05$) à la dose 0.5 et 3% de NaCl combiné avec 3000ppm de cuivre ce qui explique une corrélation positive entre l'augmentation des polyphénols et la dégradation des protéines des feuilles des plantes stressées, par rapport aux témoins, respectivement.

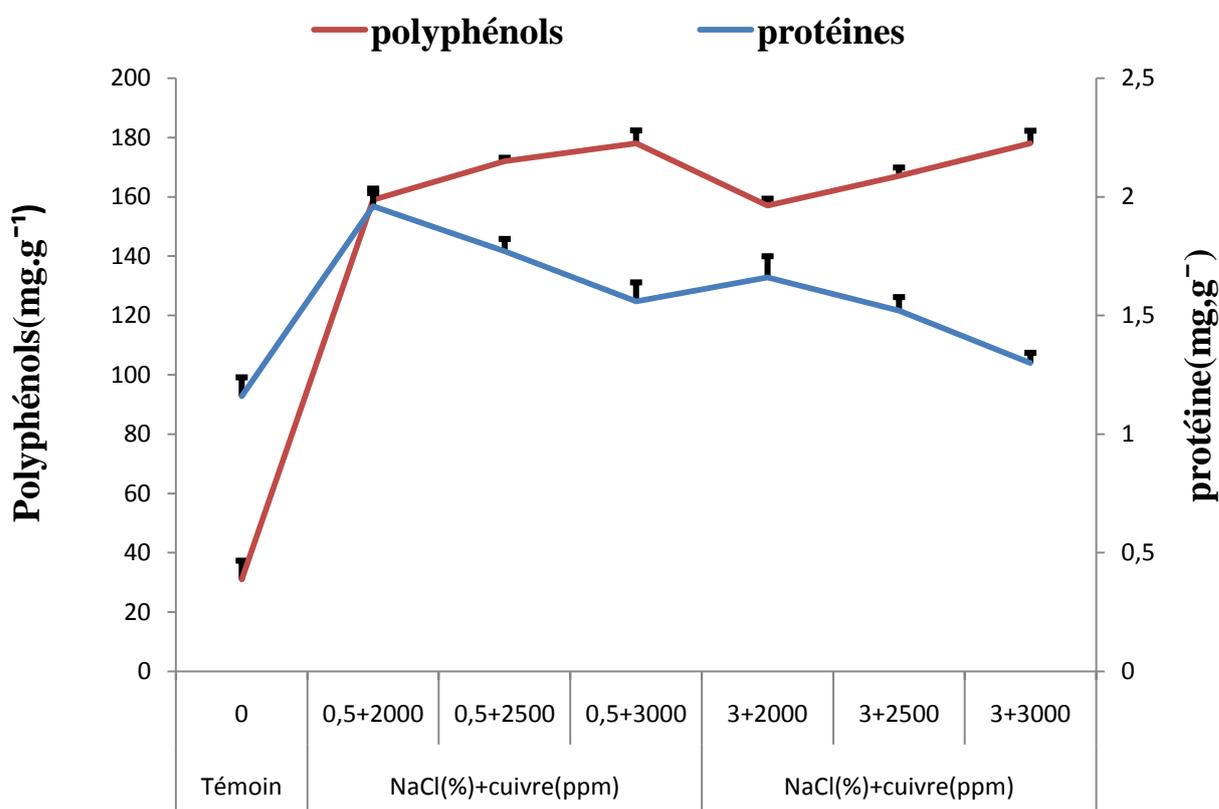


Figure 39. Relation entre les protéines et polyphénols des feuilles d'*Atriplex canescens* sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre.

L'analyse statistique montre que la diminution des protéines avec l'augmentation des polyphénols est hautement significative dans les feuilles par rapport aux témoins.

8. Relation les protéines et les flavonoïdes

Après un mois de stress en présence du sel combiné avec le cuivre à différentes concentrations. 0.5 et 3 % de NaCl combiné avec 2000,2500et 3000 ppm du cuivre les protéines démunies dans les feuilles des plantes stressées à partir de la dose 0.5 % de NaCl combiné avec 2000ppm de cuivre (**Figure 40**), dans les feuilles des plantes stressées (**Figure 40**) les flavonoïdes augmentent d'une manière générale en même temps que les protéines dégradées par rapport aux témoins sauf à la dose 3 % de NaCl combiné avec 2000, ppm de cuivre où on observe une légère diminution de la flavonoïde .

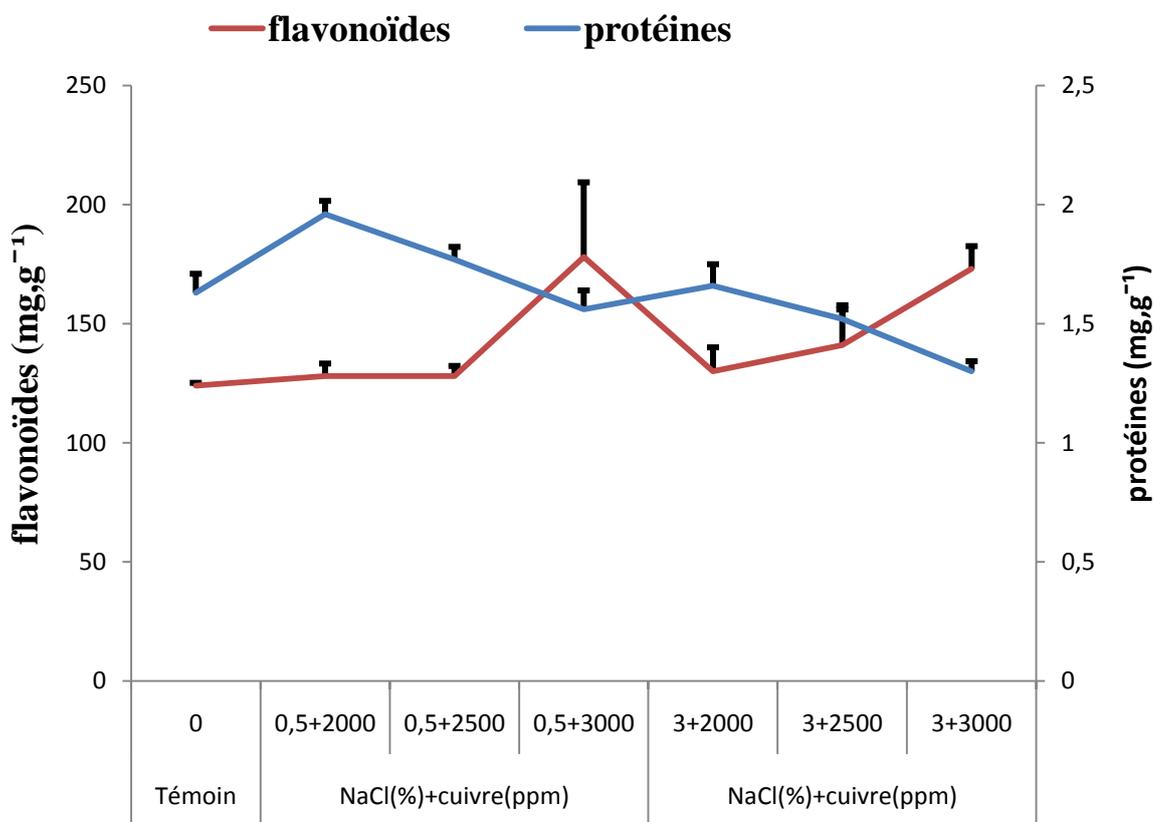


Figure 40. Relation entre les protéines et les flavonoïdes des feuilles d'*Atriplex canescens* sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre

L'analyse statistique montre que la diminution des protéines avec l'augmentation des flavonoïdes est significative dans les feuilles par rapport aux témoins et à la dose 3 % de NaCl combiné avec 2000, ppm de cuivre où l'effet de stress est non significatif.

9. Relation entre les protéines, les polyphénols et les flavonoïdes

D'après la figure 41, les résultats obtenus représentent une relation entre l'évolution de protéines et du taux des antioxydants dans les feuilles des plantes après la durée du stress, où elles croissent à l'inverse des doses. On observe une légère diminution de taux de protéines accompagnant avec une augmentation des antioxydants. Les doses 3% combinées avec 2500 et 3000 ppm de cuivre provoquent une dégradation plus importante de protéines avec une augmentation plus importante des polyphénols et flavonoïdes comparativement avec les témoins et les autres traitements.

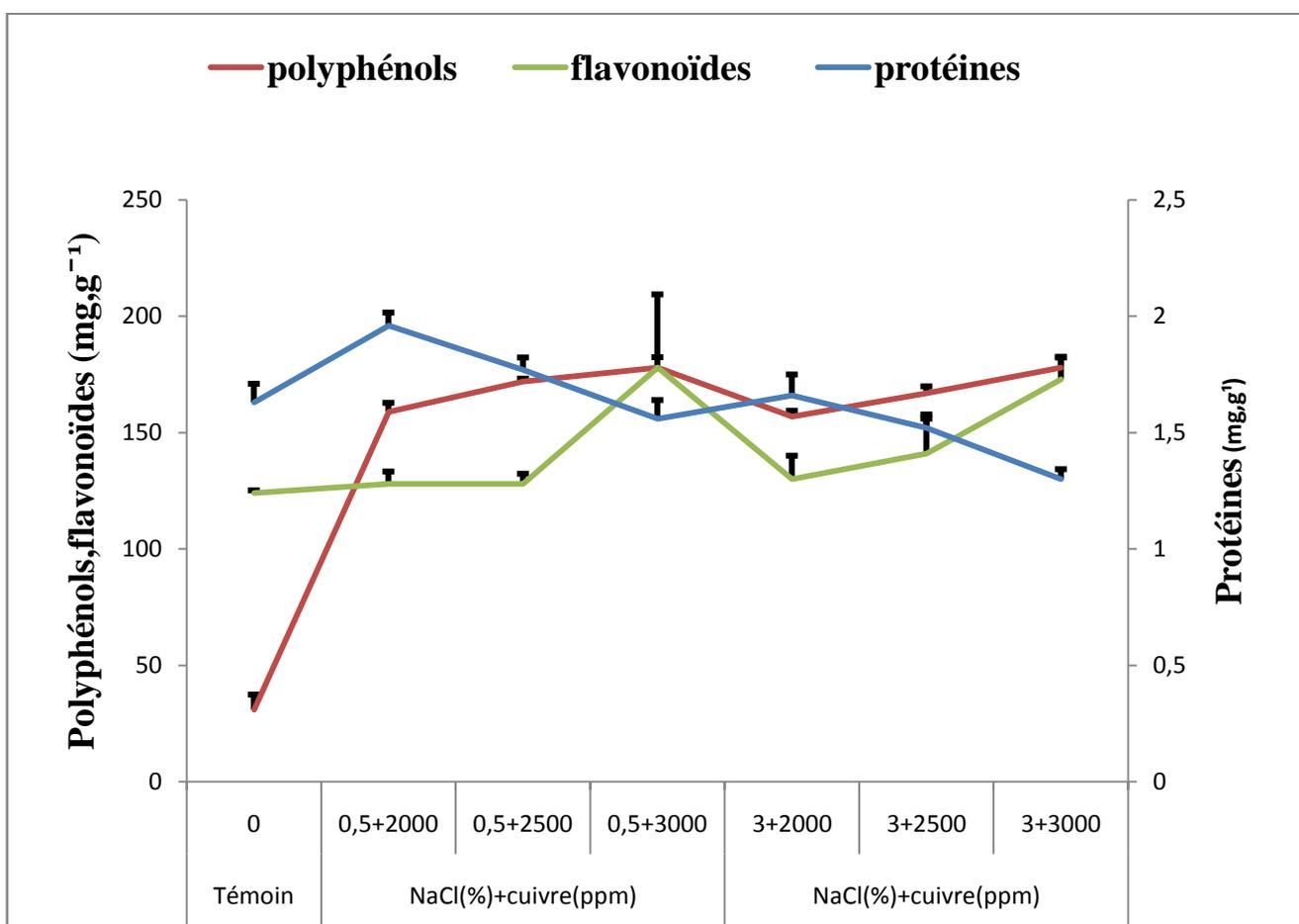


Figure 41. Relation entre les protéines, polyphénols et les flavonoïdes des feuilles d'*Atriplex canescens* sous l'effet combiné de la salinité avec le cuivre

L'analyse statistique montre que le taux des protéines et les antioxydants sous l'effet du cuivre sont significatifs chez les feuilles des plantes sous les doses de 3% de NaCl combiné avec 2500 et 3000 ppm de cuivre, et non significatifs dans les autres traitements.

DISCUSSION

Discussion

Les résultats obtenus sur l'effet combiné de la salinité et du cuivre sur les paramètres biométriques, hydriques, biochimiques et minéraux effectués chez *Atriplex canescens* pendant un mois montrent:

I –Pour les paramètres biométriques

La croissance des tiges et de la surface foliaire semble indifférente à la contrainte saline combinée avec le cuivre et ne présente qu'une légère diminution vis-à-vis du niveau des doses de stress appliquées. Par contre, les traitements salins (0.5 et 3 %) de NaCl associés à la dose de 3000ppm de cuivre sur *Atriplex canescens* enregistrent les valeurs les plus importantes, soit une différence de 3 et 4.0 cm³ de volume racinaire.

a- Longueur des tiges

La longueur des tiges de *Atriplex canescens* diminue au fur et à mesure que le traitement salin et métallique augmente avec une différence de 2cm sous le traitement 0.5 % de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre et de 3 cm sous le traitement de 3 % de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre. Ceci est en accord avec les résultats de **Osmond et al (1980)**, qui rapportent que les halophytes comme *Atriplex* sp, montrent une stimulation de croissance importante sous l'effet de NaCl. Les résultats ont été indiqués par **Akram et al, (2002)** qui ont soumis le blé à une contrainte saline, ils trouvent une diminution de la longueur des tiges, laquelle diminution a été observée chez le *Cyrodon dactylon* .L (**Hameed et al., 2014**). D'après **Rahmoune et al ., 2008**, la croissance de la longueur des tiges diminue avec l'intensité du stress salin. La réduction du développement des racines et des tiges serait due aux effets toxiques des teneurs élevées de NaCl et au déséquilibre de la disponibilité en nutriments (**Data et al., 2009**). Les résultats ont été obtenus par **Soualem (2007)** pour la longueur racinaire chez deux provenances (Oran et Tiaret) d'*Atriplex halimus*. **Bajji et al (2002)** rapportent que le taux de croissance relative de la partie aérienne de l'atriplex décroît à la réponse de 150 mM de NaCl pendant que les racines ne sont pas affectées.

b- Surface foliaire

L'effet combiné de la salinité et du cuivre sur la surface foliaire de *Atriplex canescens* montre une diminution significative chez les feuilles des plantes stressées comparativement aux plantes témoins. Plusieurs auteurs ont démontré que lorsque la

salinité augmente, la surface foliaire diminue, cette diminution variant en fonction de la dose de stress appliquée (Augé *et al.*, 1986). Les concentrations élevées de NaCl réduisent significativement la surface foliaire et augmentent la densité stomatique : on en déduit donc que les feuilles de l'*Atriplex canescens* ferment généralement leurs stomates lorsque le stress salin s'intensifie afin de minimiser les pertes en eau (Blum *et al.*, 1981). Une limitation de la surface foliaire et le contrôle de l'ouverture et la fermeture des stomates ont été adoptés par le stress salin (Begg et Turner, 1976 ; Blum *et al.*, 1981 ; Araus *et al.*, 2008). Des résultats similaires décrivent à l'échelle des feuilles la contrainte saline appliquée aux plantes qui entraîne une réduction de la surface foliaire, et l'expliquent comme une réduction d'apport en glucides (Munns *et al.*, 1995). Ces résultats ont été observés chez plusieurs espèces dont trois cultivars de *Médicago Sativa* .L (Mezni *et al.*, 2012), outre que la réduction de la surface foliaire face à une contrainte saline a été considérée comme un processus d'adaptation à travers une meilleure efficacité d'utilisation de l'eau (Omani *et al.*, 2006). Ce qui explique que la plante perçoit alors la présence de forte concentration en sodium dans le sol et réoriente la croissance des racines (Yonghao *et al.*, 2011). D'autres travaux sur les métaux font état d'inhibition de la croissance et de réduction de l'élongation foliaire, après exposition par le cuivre dans le radis (Sun *et al.*, 2010) et le mercure dans *Pfaffia glomerata* (Calgaroto *et al.*, 2010), cet effet étant fonction de la dose et de la durée du traitement (Sun *et al.*, 2010 ; Calgaroto *et al.*, 2010).

c- Volume racinaire

Le volume occupé par les racines des plantes dans le sol revêt une grande importance pour l'absorption de l'eau, les racines acclimatées à de fortes concentrations de sels présenteraient alors une croissance différenciée. En général, les racines superficielles peuvent vaincre des tensions de succion supérieures et se procurer de l'eau même dans un sol apparemment sec (Soltner., 2000). D'après Sanchez *et al* (1991), la diminution du poids sec des racines des tomates est une conséquence de la salinité. Selon Osmond *et al* (1980), les halophytes comme *Atriplex* spp, montrent une stimulation de croissance des racines à des concentrations importantes de NaCl, qui sont inhibitrices de croissance chez les glycophytes. D'autres travaux montrent que l'inhibition de la croissance racinaire, après exposition des plantes par des métaux lourds variés tels que, l'arsénite dans le riz (Choudhury *et al.*, 2010), le cadmium dans le radis et le blé (Anuradha et Rao, 2007 ; Liu *et al.*, 2007) , le chrome dans le melon (Akinci, 2010), le plomb dans les petits pois , le radis , le maïs, *Arabidopsis thaliana*, l'ail et *Glomus et uncatum* (Kopittke *et*

al.,2007 ;Gopal et Rizvi, 2008 ; Ekmekçi et *al.*, 2009 ; Liu et *al.*, 2009 ; Phang et *al.*,2011 ; Souza et *al.*, 2012) Bajji et *al* (1998), rapportent que, le taux de croissance relative de la partie aérienne d'*Atriplex halimus* décroît à la réponse de 150 mM de NaCl cependant que les racines ne sont pas affectées.

II- Pour les paramètres hydriques

La teneur relative en eau et la perte d'eau par transpiration dans les feuilles sont de bons indicateurs de l'état hydrique de la plante face aux stress, ils sont inversement proportionnels au taux de salinité combiné avec le cuivre. Cela se remarque particulièrement lorsque la plante est soumise à 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre. Ce qui semble être un comportement de résistance au stress appliqué.

a-Teneur en eau

La teneur en eau, ne dépend pas de la teneur en sel et cuivre du milieu puisque les plantes stressées ont présenté une capacité d'alimentation hydrique. C'est ce qui est confirmé par Gale (1975), lorsqu'il écrit : «En cas de stress salin, l'ajustement osmotique et la réduction de la transpiration se conjuguent pour vaincre toute augmentation de la résistance des racines au passage de l'eau. ». On a observé pour le NaCl et le cuivre que l'effet de la salinité est négatif sur la disponibilité de l'eau en particulier chez les lots stressés à 0.5 et 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre. Nos résultats confirment ceux trouvés par (Gale, 1967, Strogonov, 1964), qui affirment que le sel diminue la transpiration des plantes, conséquence ou cause de la diminution de la transpiration, l'absorption hydrique par les racines est également réduite. L'absorption de sel dans les tissus menace le bon fonctionnement physiologique des cellules, d'un autre côté, la présence de sel, en abaissant le potentiel hydrique du sol, menace l'approvisionnement en eau de la plante, ce fait a été bien établi chez les plantes de différentes résistances (Hoffman et Phene, 1971)

b-Teneur relative en eau(RWC)

Les résultats obtenus permettent de décrire d'une manière globale le statut hydrique de la plante, d'évaluer l'aptitude à réaliser une bonne osmoregulation et de maintenir une turgescence cellulaire (El Jaafari et *al.*, 2000). Nos résultats sont en conformité avec les travaux de (Soualem ,2005), qui indiquent que le RWC diminue chez l'*Atriplex halimus* L stressées par NaCl et l'eau de mer (50% et 100%). Mêmes résultats chez *Casuarina glauca*, la luzerne et le blé (Albouchi et *al .*, 2003). En effet, le stress salin induit des

changements au niveau du statut hydrique de la plante (**Hasegawa et al., 2000 ; Fricke et al., 2002**), réduit le contenu relatif en eau des feuilles et diminue la transpiration (**Ngasamy et al., 2006 ; Albouchi et al., 2000**) et l'absorption hydrique par les racines (**Snoussi et al., 2004**). Ce fait a été établi chez des plantes de différentes résistances comme *Zygophyllum album* et *Atriplex verrucifera* (**Mehani et al., 2012**).

c-Pertes d'eau par transpiration (RWL)

Les résultats trouvés sur la perte d'eau par transpiration montrent une diminution significative des pertes d'eau par transpiration dans les feuilles de l'*Atriplex canescens* après les 30ème, 60ème et 120ème minutes pour les doses de 3 % de NaCl plus 3000 ppm de cuivre. Des travaux récents ont démontré que la diminution de la transpiration de feuilles d'*Atriplex canescens* serait une conséquence de la fermeture des stomates lorsque le stress salin s'intensifie, afin de minimiser les pertes d'eau. **Aboussouane et al (1985)** pensent que cette résistance stomatique se manifeste par une présence de nombreux stomates de petite taille et à fermeture rapide. Le maintien d'une certaine quantité d'eau intracellulaire permet également de diluer les sels introduits. **Heller et al (2004)**, notent que les plantes soumises à un stress salin, ferment leurs stomates plus tôt que les plantes en conditions normales, cela augmente la résistance stomatique du fait de la diminution de l'absorption hydrique. En outre, (**Nilson et al., 2007**) ont établi la relation entre la transpiration et la résistance stomatique chez *Arabidopsis thaliana* par l'augmentation de cette résistance lors du stress salin, afin de minimiser les pertes d'eau. D'autres rapportent que la diminution de la croissance des feuilles résulte en partie d'une réduction de l'assimilation nette en CO₂, provoquée par la fermeture de stomates en réponse au faible potentiel de l'eau du sol ou du substrat lors d'un stress salin (**Akita, 1990**).

III – Pour les paramètres biochimiques

a- La chlorophylle «a», «b», «a+b »

Les résultats obtenus montrent une diminution significative dans la concentration des pigments chlorophylliens, chlorophylle «a», «b», «a+b » dans les plantes stressées par rapport aux témoins. Nos résultats suggèrent que chez l'*Atriplex canescens* (Pursh) Nutt, la teneur en chlorophylle «a», «b», «a+b ») varie en fonction des doses de NaCl combiné avec le cuivre, cette espèce tolère une forte intensité de stress salin en élaborant normalement l'activité photosynthétique et la production de la matière organique (**Priso et al., 2010**). Les résultats obtenus sont conformes avec ceux de (**Rédondo et al., 2000**)

chez les plantes tolérantes à la salinité. Les *Atriplex* portulacoides ont été soumises à un stress métallique, la fluorescence chlorophyllienne et la teneur en chlorophylle (**a, b, a+b**) ont été infectées par quatre métaux combinés (Cd, Zn, Cu, Pb) à certaines doses (**Fargašová et al., 2006**). Ces résultats sont conformes aussi avec plusieurs études réalisées sur différentes plantes en conditions salines et métalliques. Le contenu de la chlorophylle diminue considérablement chez les plantes sauvages d'*Arabidopsis thaliana* (**Mitsuya et al., 2006**). Trois cultivars de *Lycopersicon esculintum* et une accession de *Lycopersicon Sheesmarrii* ont été étudiés sous différents régimes d'irrigation à l'eau saline, les teneurs en chlorophylle (a, b, a+b) ont été réduites sous l'effet d'un stress salin (**Eliklil et al., 2002**). **El Midaoui et al (2007)**, ont étudié les effets de quatre niveaux de NaCl sur le tournesol (*Helianthus annuus* L), les résultats de la chlorophylle chez les témoins sont importants comparativement aux plantes stressées. D'après (**Priso et al., 2010**), les concentrations moyennes des chlorophylles (a + b) dans les feuilles de ces deux espèces rencontrées au voisinage du marécage pollué sont significativement plus faibles que celles obtenues en milieu non pollué, impacts des eaux polluées sur la croissance, les teneurs en chlorophylles et substances organiques dans les feuilles de Poaceae. Des résultats similaires ont montré que la teneur en pigments chlorophylliens est réduite sous l'effet de cuivre dans le radis (**Gopal et Rizvi, 2008 ; Sun et al., 2010**) et le maïs, *Chlorella vulgaris* et *Pfaffia glomerata* (**Bajgus, 2011 ; Gupta et al., 2011**) et des métaux lourds comme l'aluminium dans la pomme de terre et le concombre (**Tabaldi et al., 2007 ; Pereira et al., 2007**) et le nickel dans le blé (**Gajewska et Sktodowska, 2007**). La teneur en chlorophylle réduite due à la toxicité du nickel chez différentes espèces de plantes a été bien documentée, cet effet en fonction de la concentration et la durée du stress salin et métallique (**Dubey et Pandey, 2011; Shabnam et Seema, 2011**). Chez l'*Atriplex halimus* cultivé à une concentration de NaCl (500mM), **Gale et Poljakoff-Mayber (1970), Benahmed (1995)** ont noté une diminution de la photosynthèse de l'ordre de 30% de sel.

b- Les protéines

L'irrigation des plantes d'*Atriplex canescens* par la solution de 0.5 et 3 % de NaCl combiné avec 2000, 2500, 3000 ppm de cuivre induit une perturbation sur la teneur en protéine dans les tissus foliaires et racinaires. Les teneurs des protéines chez les feuilles et les racines des plantes d'*Atriplex canescens* stressées avec 3% de NaCl combiné avec 2500 et 3000 ppm de cuivre se traduisent par une diminution de taux de protéine par rapport aux plantes témoins. Ces résultats sont en accord avec les travaux de (**Shakil et al 2004 ;**

Ashraf et Rasul, 1988 ; Ehab et al., 2013) qui ont montré que la salinité et le cuivre ont réduit également le taux des protéines contenues dans toutes les parties de la plante, les feuilles, les racines, la longueur des bourgeons,...etc. **Abdelhaleem (2007)**, montre une décroissance significative de la teneur en protéines sur *Vigna radiata* L, sous stress salin. Pour **Cargnelutti et al ., 2006**, l'exposition des plantes aux métaux lourds provoque une dégradation rapide des protéines, en entraînant des modifications variables dans la structure des protéines. Cependant, certaines plantes peuvent synthétiser de nouvelles protéines contre ce stress (**Verma et Dubey, 2003**). Lorsque les plantes *Parcratium martimum* reçoivent 100 mmol de NaCl les taux des protéines diminuent (**Kheder et al ., 2000 ; Shakeel et Mansour, 2012**). Par contre des augmentations des teneurs des composés protéiques en réponse à des agressions chimiques salines sont assez bien connues. Par exemple chez la tomate, l'orge et *tagetes patula* .L, (**Amini et Ehsanpour, 2005 ; Pirasteh et al., 2014**), cette augmentation pourrait provenir des réactions de défense des plantes face au stress (**Lepengue et al ., 2012**), car les protéines sous contrainte saline s'accumulent et agissent comme régulateurs osmotiques (**Ahmad et al ., 2003**). La réduction de la teneur en protéines solubles sous l'effet du stress abiotique a été signalée par **Khosravinejad et al ., 2009 ; Amini et al ., 2007**, chez l'orge et la tomate . Il semble que la baisse totale des protéines solubles au cours du stress salin soit due à une diminution importante de la photosynthèse (**Lee et al., 2004**).

c- Proline

Notre étude montre que l'accumulation de la proline chez les feuilles et les racines des plantes de l'*Atriplex Canescens* (Pursh) Nutt est proportionnelle à la concentration de NaCl combiné avec le cuivre. Différentes fonctions sont attribuées à l'accumulation de la proline : détoxification des métaux, osmo-régulation, chélation et stabilisation de la machinerie de la synthèse protéique (**Sharmila et Pardha Saradhi, 2002**). Selon **Hassani et al (2008)**, l'accumulation de la proline affecte les feuilles des plantes stressées par NaCl, permet la protection de la membrane cellulaire et en plus, participe à l'ajustement osmotique. L'accumulation de la proline pourrait être liée au niveau de tolérance au stress biotique et abiotique (**Thiery et al 2004 ; Fabro et al 2003 ; Djeddi ., 2006 ; Hadjaj et al 2011**). Ces résultats montrent la même observation sous le cuivre dans le riz et les carottes(**Chen et al., 2004 ; Szafrńska et al., 2011**), ou d'autres métaux lourds comme le plomb et cadmium dans le radis et l'arachide (**Tecklic et al., 2008 ; Anuradha et Rao, 2007 ; Dinakar et al.,2009**) , et le mercure dans *Pfaffia glomerata* (**Calgaroto et al.,**

2010), ou le stress salin dans la tomate (He et Zhu, 2008) ; cet effet étant fonction de la concentration et de la durée du stress. Pour Alem et Ameri (2005), l'importance de la proline comme indicateur aux agressions semble jouer un rôle dans le maintien des pressions sol-vacuole et des systèmes enzymatiques ainsi qu'un régulateur du pH. D'après Tal et al (1979), Benabi (2006), l'accumulation de la proline est l'une des manifestations les plus remarquables dans la résistance en sel. Elle pourrait s'accumuler suite à une perturbation du métabolisme des protéines (Bezzala., 2005). Selon Belkhodja et Bedai (2007) ; Monneveux (1989), la teneur de la proline augmente significativement avec l'augmentation de la salinité, c'est une forme d'ajustement du potentiel osmotique. Ces résultats sont concordants avec ceux des chercheurs comme, Lei et al., (2007) ; Sharma et Dietz, (2006) qui montrent la relation de l'effet toxique des métaux, tels que le Mn, Zn, Pb, Co, Cu avec l'augmentation de la proline chez les feuilles et les racines des plantes stressées par ces métaux. L'accumulation de la proline est signalée chez plusieurs plantes, tournesol sous l'effet du cadmium (Balestrasse et al. 2005), chez *Hydrilla verticillata* (l.f.) sous l'action combinée du plomb et du cadmium (Singh et al. 2012). D'après (Belkhodja et Bedai., (2004). Grignom(1991) la proline est une substance qui s'accumule dans les tissus soumis au stress biotique et abiotique et constitue un moyen de résistance et de tolérance aux différents stress. Selon khedim et al ., (2017), l'accumulation de la proline est très importante dans l'*Atriplex canescens* stressé par 3000 ppm de cuivre par rapport à la plante non stressée. Cette accumulation est plus élevée dans les feuilles que dans les racines. Mêmes résultats obtenus par Neggaz et Yssaad, (2018) sur l'accumulation de la proline qui est plus élevée dans les feuilles par rapport aux racines du radis radis (*Raphanus sativus* L) sous traitement de 3000 ppm de cuivre.

d- Sucre soluble

Les résultats montrent des valeurs élevées des sucres solubles dans les feuilles en situation de stress combiné comparativement au témoin, ce qui explique que l'*Atriplex canescens* (Pursh Nutt) a concentré ses composés glucidiques au niveau foliaire. Costa et Spitz (1997) ; Dubey et Singh (1999) suggèrent que l'accumulation de glucide soluble a été rapportée en réponse à différents stress environnementaux et particulièrement les métaux. C'est une stratégie adoptée par les plantes afin de résister aux contraintes du milieu (Bajji et al .,1998 ; El Midaoui et al., 2007). Ceci s'accorde avec de nombreux travaux qui rapportent une augmentation de la teneur en glucides solubles sous l'effet du plomb dans *Chlorella vulgaris* (Bajguz, 2011) , et des métaux lourds comme l'aluminium

(Mishra et Dubey, 2008), l'arsénite (Jha et Dubey, 2005 ; Choudhury *et al.*, 2010), et le cadmium dans le riz (Verma et Dubey, 2001). Pour khedim *et al.*, (2017), l'accumulation de sucres solubles est plus élevée dans les feuilles que dans les racines de l'*Atriplex canescens* sous traitement de 3000 ppm de cuivre. Selon Clifford *et al* (1998), l'accumulation des sucres solubles peut résulter d'une augmentation de l'hydrolyse de l'amidon puisqu'il a enregistré, simultanément, une diminution de l'amidon et une accumulation de sucre soluble dans les tissus stressés. Cette accumulation pourrait avoir un rôle osmotique empêchant la déshydratation des cellules et le maintien de la balance de la force osmotique pour garder la turgescence et le volume cytosolique aussi élevés (Bouzoubaa *et al.* , 2001). Des corrélations significatives ont été établies en conditions salines et métalliques en teneur des feuilles en sucres solubles totaux de certaines espèces comme le tournesol, le haricot, la tomate et le riz (El Medaoui *et al.*, 2007).

V- Pour les Antioxydants

a- polyphénols totaux et flavonoïdes

L'accumulation des polyphénols totaux et des flavonoïdes est plus élevée dans les feuilles des plantes stressées au 0.5 et 3% de NaCl combiné avec 3000 ppm de cuivre. Ces résultats sont concordants à ceux de Gao *et al.* ,(2008) ; Lotmani et Mesnoua ., (2011), qui ont montré une augmentation de la capacité des antioxydants de l'*Atriplex halimus* pour faire face au stress du cuivre. L'augmentation de la dose de plomb (2000 ppm) provoque chez le radis (*Raphanus sativus* L.) une augmentation totale des polyphénols et des flavonoïdes après 45 jours de stress ,(Neggaz et Yssaad, 2018). Anshula et Gurpreet, (2013) confirment l'effet toxique de cuivre qui augmente l'activité des antioxydants chez la plante Chickpea (*Cicer arietinum* L). La synthèse des polyphénols augmente proportionnellement avec l'augmentation de la teneur des sels chez l'orge, l'artichaut et le piment rouge (Ali et Abbes ,2003; Ksouri *et al.* , 2007 ; Rezazadah *et al.* ,2012). Une hausse en polyphénol, suite à l'augmentation de la salinité, est signalée chez l'orge (Ali et Abbes, 2003) et le maïs (Hajlaoui *et al.*, 2009). Les travaux de Awika et Rooney (2004) et de De Abreu et Mazzafera (2005) concluent que les réponses des espèces varient considérablement dans leur teneur en composés phénoliques liée à leur variabilité génétique et à leur environnement. Selon Rezazadeh *et al* (2012) les teneurs en flavonoïdes chez les feuilles de l'artichaut (*Cymara scolymus*)

augmentent avec l'augmentation des concentrations salines, et chez les feuilles d'okra (*Abelmoschus esculentus* L) sous stress de NaCl (**Bendkhel et Denden., 2012**).

Les niveaux élevés de salinité, l'absorption de certains métaux, substances principales à la synthèse des métabolites secondaires comme les flavonoïdes (**Waring et Pittman, 1985**). Ceci est dû aussi aux troubles de l'activité enzymatique à cause d'une salinité accentuée, qui diminue la photosynthèse et par la suite l'augmentation et la synthèse des flavonoïdes (**Wong et al., 2006**). Cette augmentation est plus élevée dans la partie aérienne du radis sous traitement de 2000 ppm de plomb, (**Neggaz and Yssaad, 2018**). Une augmentation significative de la synthèse des flavonoïdes en réponse de l'application de l'acide salicylique est observée chez plusieurs espèces telles que *Matricaria chamomilla* (**Kováčik et al., 2009**), *Taraxacum officinale* (**Kim et al., 2009**), *Zingiber officinale* et *Silybum marianum* (**Khalili et al., 2009 ; Ghasemzadeh et Jaafar, 2012**) et *Calendula officinalis* L. (**Pacheco et al., 2013**).

VI – Pour le bilan minéral

a-Sodium

La salinité révèle une variabilité cationique de la réponse de l'*Atriplex* comme étant un bon marqueur physiologique au stress salin. Nos résultats montrent une augmentation du Na⁺ dans les feuilles par rapport aux racines, sous l'effet du stress appliqué, cette augmentation est remarquable au niveau de 0.5 et 3 % de NaCl combiné avec le cuivre. D'après **Bouaouina et al (2000)**, l'accumulation cellulaire de Na⁺ chez le blé augmente avec la concentration de NaCl. **Reiman (1993)**, rapporte que, chez les espèces du genre *Atriplex*, il y a une translocation préférentielle des ions Na⁺ vers la partie aérienne. **Chadli et Belkhodja (2007)**, notent que l'apport d'une solution saline au NaCl plus CaCl₂ ou à l'eau de mer provoque chez les plantes de la fève *Vicia faba* L, une migration du Na⁺ vers les parties aériennes avec une forte accumulation de sodium dans les tiges des plantes. Dans les racines, le sodium atteint son maximum à salinité modérée (300 meq de NaCl+CaCl₂), alors que sous stress salin sévère (400 meq et à l'eau de mer), son accumulation ralentit lentement. Il est conçu que la tolérance à la salinité chez les glycophytes est leur capacité à éviter l'accumulation excessive foliaire de cations monovalents, notamment le Na⁺ (**Lazof et Cheeseman., 1988 ; et Belkhodja, 1996**). Des travaux menés par **Tremblin et Ferard (1994) . ; Ouerghi et al (1998)**, montrent que les teneurs en Na⁺ sont plus élevées dans les parties aériennes et que ce cation migre vers les

feuilles pour s'y accumuler. Ce transfert de Na^+ des racines vers les parties aériennes et son enrichissement augmente avec l'intensité et la durée du stress salin (**Ouerghi et al., 2000**). Les mêmes observations sont rapportées chez le blé sous l'action combinée du sel et du plomb (**Khizar et al., 2013**), et chez *Atriplex canescens* (**Ghellai, 2014**). Alors qu'**Azzouz (2011)**, rapporte cette réduction du cation seulement dans les racines de la fève (*Vicia faba*) sous l'effet du plomb.

b- Potassium

Le potassium joue un rôle dans le contrôle de la turgescence cellulaire (**Sairam et Tyagi, 2004**), et contribue également dans la réduction du potentiel osmotique des cellules racinaires pour faciliter les processus de solutés (**Houala, 2007**). L'accumulation du K^+ dans la plante augmente dans les feuilles par rapport aux racines dans les différents traitements du stress combiné. L'effet du potassium sur les feuilles par rapport aux racines est significatif. Nos résultats convergent vers ceux obtenus par **Boukraâ (2008)** sur les plantes d'*Atriplex halimus* traitées au 300 et 600 meq du NaCl et NaCl+CaCl₂, où les teneurs de potassium baissent dans les feuilles quand le milieu salin est concentré en NaCl, mais augmentent dans les tiges, comparativement aux plantes témoins. Par ailleurs, avec l'utilisation du NaCl+CaCl₂, **Ould el Hadj-Khelil, 2001**, signale que les teneurs en K^+ diminuent dans les plantes de tomate cultivées en présence de NaCl à 50 et 100 μmol de NaCl.

-Accumulation du cuivre dans les feuilles et racines de la plante

Les résultats trouvés ont permis de mettre en évidence la capacité de *Atriplex canescens* à accumuler le cuivre, toutefois, l'accumulation du cuivre est plus importante dans les feuilles comparativement aux racines. Des études faites par **Chaignon, (2001)** ont montré que le cuivre était dans un premier temps accumulé au niveau des racines, puis, après 14 semaines de culture, l'élément était mobilisé vers les parties aériennes. Les teneurs en métaux lourds obtenues dans les biomasses sèches des plantes sont supérieures aux valeurs obtenues avec les concentrations critiques au-dessus desquelles les effets de toxicité sont possibles (**Kabata-Pendias and Pendias, 1992**). Des études antérieures réalisées avec le colza sur des sols contaminés, montrent une accumulation du Pb, de Cu, Cd et du Zn dans la biomasse de la plante (**Blaylock et al., 1997**). Des résultats similaires ont été aussi trouvés par **Thi My (2009)** avec *Lantana camara* sur des sols contaminés au Pb. Les données de **Santosh et al. (2009)** sur le *Jatropha curcas* confirment les résultats

des auteurs précédents. En effets, les travaux de **Santosh et al. (2009)** ont révélé des biomasses croissantes des organes végétaux de *J. curcas* sur des sols contaminés par les métaux lourds , déchets urbains , biofertilisants. Des résultats semblables ont été observés pour le bouleau, l'érable, le tilleul, le saule (**Piczak et al., 2003**) et le peuplier (**Laureysens et al., 2004**). Aux Etats-Unis, *Alyssum corsicum* et *Alyssum corsicum* sont utilisées pour la phytoextraction du nickel; elles peuvent accumuler plus de 2000 mg/kg de nickel dans les parties aériennes (**Chaney et al., 2007**). Chez *Armeria maritima* subsp. *halleri*, dans les feuilles du marron (les plus âgées), les concentrations en Cu, Cd, Zn et Pb sont 3 à 8 fois celles des jeunes feuilles (**Dahmani-Muller, 1999**). Cette observation suggère un transport interne depuis des feuilles vertes, encore actives d'un point de vue photosynthétique, vers les feuilles qui sont sur le point de tomber, préservant ainsi la photosynthèse tout en détoxiquant la plante. Une accumulation de Cd a été également observée dans les trichomes de plusieurs espèces (**Salt et al., 1995**).

L'ensemble de ces résultats indique que l'*Atriplex canescens* adopte le mécanisme interne de détoxification de cuivre combiné avec le sel, par une augmentation des bioindicateurs du stress (la proline et sucre soluble) suivie par des dégradations de protéine et les chlorophylles. Les effets du stress salin et métallique sur la photosynthèse montrent que les échanges gazeux (transpiration et conductance stomatique) entre la plante et l'atmosphère diminuent les flux dans les plantes traitées, et également amplifiées par une diminution de la surface foliaire, ce qui va diminuer l'accumulation des sels dans les tissus, et explique que la réduction de la photosynthèse n'est reliée qu'à l'étage foliaire mais aussi à la réduction de la surface foliaire , la surface foliaire de l'*Atriplex canescens* étant plus restreinte, et implique ainsi une réduction du nombre de stomates conduisant à une économie d'eau plus élevée (**Munns et al., 2002**). Cet effet influe sur le changement dans l'existence des antioxydants caractérisé par l'augmentation des polyphenols et flavonoïdes. Il existe aussi des variations des paramètres biométriques, hydriques, en fonction des doses de stress appliquées. Nous avons observé que la contamination des substrats par le cuivre combiné avec NaCl, entraînait une augmentation de l'accumulation en cuivre dans les plantes stressées, surtout dans les feuilles, et dans une moindre mesure dans les parties souterraines. Cette variation montre la synthèse de molécules de défense comme les composés phénoliques et les alcaloïdes (**Pasquier, 2012**) mais elle est également synthétisée en cas de stress osmotique (**Shen et al., 1989**).

DISCUSSION

Enfin, les conséquences de l'intensité de la salinité combinée avec le cuivre révèlent une bonne tolérance de l'*Atriplex canescens*. Le stress abiotique se traduit par des changements physiologiques, biochimiques et moléculaires qui affectent la croissance de la plante et sa productivité (**Ben Naceur et al., 2001 ; Wang et al., 2001**). A cet effet, on constate que l'*Atriplex canescens* possède des mécanismes qui lui permettent de tolérer l'excès de cuivre combiné avec NaCl, jusqu'à 3000 ppm de cuivre combiné avec 3 % de NaCl.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

La phytoremédiation constitue une nouvelle technologie permettant de dépolluer les sols contaminés par l'utilisation de plantes. Parmi les différents aspects possibles de cette méthode, figure la phytoextraction basée sur l'absorption et l'accumulation du polluant dans les parties aériennes. Pour être efficace, il est nécessaire de disposer de plantes présentant une biomasse élevée. L'objectif de ce travail a été d'étudier l'utilisation d'une plante accumulatrice «*Atriplex canescens*» dans la phytoremédiation au niveau des sols salés et pollués. L'étude a porté sur l'exposition des plantes de l'*Atriplex canescens* au NaCl combiné avec le cuivre avec différentes concentrations 0.5 et 3% de NaCl et 2000, 2500 et 3000 de cuivre pendant un mois.

L'analyse biométrique et hydrique a montré:

- Une diminution légère de la hauteur des tiges des plantes stressées
- Une augmentation de volume racinaire
- Une diminution de la surface foliaire
- Une diminution de TE, RWC et RWL chez les plantes stressées de manière générale, cette diminution hautement significative chez les plantes sous traitement de 0.5 et 3 % de NaCl combinée avec 3000 ppm de cuivre.

L'analyse biochimique a montré :

- Une diminution hautement significative de chlorophylle «a» chez les plantes sous stress salin et cuivre par rapport au témoin.
 - Une diminution remarquable de la chlorophylle «b» chez les plantes stressées
 - Une diminution significative de la chlorophylle «a+b».
 - Une diminution des protéines
 - La synthèse et accumulation de la proline
 - Une augmentation des sucres solubles

En réponse au stress oxydatif la plante a induit la synthèse d'antioxydants non enzymatiques. Les résultats obtenus montrent :

- Une augmentation des antioxydants (polyphénols, flavonoïdes), d'autre part, ces résultats montrent que le stress salin engendre un stress oxydatif, cela se traduit par une accumulation de peroxyde d'hydrogène.

Ceci montre une relation entre la biosynthèse de la proline, l'accumulation des sucres solubles et l'élévation des taux de polyphénols, flavonoïdes, cette relation est plus

CONCLUSION GENERALE

importante dans les feuilles des plantes stressées par 2500 et 3000 de cuivre combiné avec 3% de NaCl.

- Cette étude montre aussi que l'espèce de l'*Atriplex canescens* semble être tolérante au sel et au cuivre sous ces conditions expérimentales. Ceci est témoigné par :

- Accumulation du Na⁺ et du K⁺ dans les feuilles et les racines de cette espèce
- Accumulation du cuivre, qui était plus élevée dans les feuilles que dans les racines

A cet effet, on constate que l'*Atriplex canescens* possède des mécanismes qui lui permettent de tolérer l'excès de cuivre combiné avec NaCl, jusqu'à 3000 ppm de cuivre combiné avec 3 % de NaCl.

Suite aux résultats que nous venons de décrire, nous pouvons proposer quelques orientations afin d'apporter de nouvelles informations sur les réponses des plantes aux stress salins et métalliques.

- Il serait important de tester la capacité phytoremédiatrice de cette espèce sous d'autres conditions expérimentales en tenant compte de l'âge de la plante car elle répond aux contraintes environnementales de manière différente au cours de son développement.

- Il serait aussi intéressant de tenir compte de la durée du stress pour mieux valoriser la réponse de la plante.

- Il serait important d'augmenter les concentrations phytoremédiantes vis-à-vis des sols très pollués.

- Généralement, les sols sont pollués par plusieurs métaux, dans ce contexte, il serait souhaitable de faire d'autres études sur cette espèce sous diverses contraintes métalliques.

Enfin, nous recommandons une valorisation des résultats de la recherche scientifique sur les techniques de phytoextraction. Si les résultats obtenus avec les plantes cultivés en pots en serre donnent des résultats satisfaisants, un suivi de plantes cultivées sur des sites pollués sera nécessaire pour se rapprocher d'avantage des conditions naturelles et proposer cette espèce comme une alternative économique et écologique à l'extraction chimique des métaux sur les sites contaminés. L'ensemble des résultats obtenus constitue une première étape vers une étude approfondie des plantes accumulatrices, bio-indicatrices, tolérantes, excluantes et même hyperaccumulatrices des divers polluants inorganiques et organiques.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abbes, A., Khan, S., Hussain, N., Hanjra, M. A., Akbar, S., 2011.** Physics and Chemistry of the Earth, Vol. 55:43-52.
- Abdel Haleem Mohamed, M.A., 2007.** Physiological aspects of Mung bean plant in response of salt stress and gibberellic acid treatment. Research Journal of Agriculture and Biological Science, Vol. 3: 200-213.
- Aboussouane, C., Planchan, C., 1985.** La réponse de la photosynthèse de deux variétés de blé à un déficit hydrique foliaire. Edit. Agron, Vol. 5: p 644.
- Ademe., 2010.** Traitabilité des sols pollués. Guide méthodologique pour la sélection des techniques et l'évaluation de leur performance.
- Adel, J. et Barder, J., 2002.** Studies of some traits related to salinity tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L). Proceeding of the International Symposium on optimum resources utilization in salt-affected Ecosystems in arid and semi-arid regions, Cairo, Egypt, p102.
- Adit., 2006.** Agence pour la diffusion de l'information technologique. Traitement biologique des sols pollués : recherche et innovation. *In* ADEME. *Publications ADEME: Sites pollués et sol.*
- Adriano, D.C., 1986 .**Trace éléments in terrestrial environment. Springer-Verlag, Inc, New York, 533p.
- Adriano, D.C., 2001 .**Copper. In Trace elements in terrestrial environment, biogeochemistry, bioavailability, and risks of metal. 2nd Edition: 499–546
- Ahemad, M., Kibret, M., 2013.** Mechanisms and applications of plant growth promoting Rhizo bacteria: Current perspective. Journal of King Saud University
- Ahmad, B. et brahimian, E., 2011.** Effect of salinity stress on activity of enzymes involved in nitrogen and phosphorus metabolism case study: Canola (*Brassica napus* L.) Asian J. Agric. Res, Vol. 5: 208-214.
- Akinci, I.E et Akinci, S., 2010.**Effect of chromium toxicity on germination and early seedling growth in melon (*Cucumis melo* L.). Afr J Biotech, Vol. 9 (29): 4589-4594.
- Akita, S., Cabuslay, G.S., 1990.**Physiological basis of differential response to salinity in rice cultivars. Plant and Soil, Vol.123: 277-294.
- Akram, M., Shahid, M and Khan, A.U., 2007.** Etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in J N M C Hospital Aligarh, India. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob, Vol .6: 4-4.
- Albouchi, A., Bejaoui, Z., et Hedi El Aouni, M., 2003.** Influence d'un stress hydrique modéré ou sévère sur la croissance de jeunes plants de *Casuarina glauca* Sieb. Edit. Science et changements planétaires. Sécheresse, Vol. 14 : 137-142.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alem, C et Ameri., 2005.** Importance de la stabilité des membranes cellulaire dans la tolérance à la salinité chez l'orge. Bio Alliance. Canada-Morocco, Vol.1: 20-31.
- Ali, R.M, et Abes, H.M., 2003 .**Response of Salt stressed barely seedlings to phenylurea. Plant Soil Environ, Vol. 49:158-162
- Ali-Zade, V., Alirzayeva, E., and Shirvani, T., 2010.** Plant Resistance to Anthropogenic Toxicants: Approaches to Phytoremediation; in: Ashraf M, Ozturk M, and Ahmad M S A, eds. Plant Adaptation and Phytoremediation, Springer Science + Business. Media, B.V: 173-186
- Amini, F., Ehsanpour, A.A., 2005.** Soluble Proteins, Proline, Carbohydrates and Na⁺/K⁺ Changes in Two Tomato (*Lycopersicum esculentum*.L.) Cultivars under in vitro Salt Stress. Am. J. Biochem Biotech, Vol.1: 212-216.
- Amini, F., Ehsanpour, A.A., Hoang, Q.T., Shin, J.S., 2007.** Protein Pattern Changes in Tomato under In Vitro Salt Stress. Russian Journal of Plant Physiology, Vol.54 (4):464-471.
- Anderson, W.N.C., 2000.** Thesis: Practical Aspects of phytoextraction. Palmerston north new-Zealand, Massey, University.
- Anshula, S and Gurpreet., 2013.** Singh Journal of Stress Physiology et Biochemistry, Vol. 9: 5-1
- Anuradha, S et Rao, S.S.R., 2007 .**The effect of brassinosteroids on radish (*Raphanus sativus* L.) seedlings growing under cadmium stress. Plant Soil Environ, Vol. 53: 465-472.
- Araus, J.L., Alegre, L., Ali dib, T., Benlarbi, M., Monneveux, P., 1991.** Epidermal and stomatal conductance in seedlings of durum wheat landraces and varieties. Colloque Physiology- Breeding of Winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments, Montpellier (France)
- Arbaoui, M., Benkhelfa, M. et Belkhodja, M., 1999 :** Réponses physiologiques de quelque variétés de blé dur à la salinité au stade juvénile. CIHEAM – Option Méditerranéennes : 167-169.
- Arias, M., Lopez, E., Fernandez, D and Soto, B., 2004.** Copper distribution and dynamics in acid vineyard soils treated with copper-based fungicides Soil Science, Vol. 169:796–805
- Ashraf, M et Rasul, E., 1988.** Salt tolerance of Mung bean (*Vigna radiata* (L) Wliczek) at two growth stages .Journal Plant and Soil, Vol. 10: 63-67.
- Ashan, N., Lee, D.G., Lee, S.H., Kang, K.Y., Lee, J.J., Kim, P.J., Yoon, H.S., Kim, J.S et Lee, B.H., 2007.** Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. Chemosphere, Vol. 67:1182-1193.
- Asloun, H., 1990.** Elaboration d'un système de production maraîchère (Tomate, *Lycopersicum esculentum*.L) en culture hors sol pour les régions sahariennes. Utilisation de substrats sableux et d'eaux saumâtres. Thèse de doctorat, développement et amélioration des végétaux, Université de Nice Sophia- Antipolis: 24- 32.
- Association Ecrin., 1999.**Spéciation des métaux dans le sol. Les cahiers des clubs CRIN, Club CRIN Environnement et Ministère de l'Environnement. Paris: Association ECRIN, 296 p.
- Atia, A., Abdelly, C et Smaoui, A., 2011.** ROS accumulation and TTC reduction in growing embryo of *Crithmum maritimum* L. isolated from water or salt imbibed seeds. Not Sci Bio: 98-103.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Augé, R.M., Schekel, K.A., Wample, R.L., 1986 b. Osmotic adjustment in leaves of VA mycorrhizal nonmycorrhizal rose plants in re- sponse to drought stress. *Plant Physiol*, Vol. 82:765–770

Awika, J.M., Rooney, L.W., 2004. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry*, Vol. 65(9):1199-1221

B

Baba Sidi – Kaci, S., 2010. Effet du stress salin sur quelques paramètres phoenologiques (biométrie, anatomie) et nutritionnels de l’Atriplex en vue d’une valorisation agronomique. Thèse de magister .2010 Université Ourgla .Algerie

Baha, N., 2015. Biodiversité des bactéries associées aux nodules de la luzerne ... Université des sciences et de la technologie Houari Boumediène : p 254

Bahorun, T., 1997. Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Council, Reduit, Mauritius,83-94.

Baize, D., 2009. Éléments traces dans les sols - Fonds géochimiques, fonds pédogéochimiques naturels et teneurs agricoles habituelles - Définitions et utilités. In: ADEME, 2ème Rencontres Nationales de la Recherche sur les Sites et Sols Pollués, Paris 9 p.

Baize, D and Tercé, M., 2002. Les éléments traces métalliques dans les sols. Approches fonctionnelles et spatiales. INRA Editions, Paris, 565 p.

Bajgus, A., 2011. Suppression of *Chlorella vulgaris* Growth by Cadmium, Lead, and Copper Stress and Its Restoration by Endogenous Brassinolide. *Arch Environ Contam Toxicol*, Vol.60: 406–416.

Bajji, M., Kinet, J. M et Lutts Stanley., 1998 .Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures. *Plant Science*, Vol. 137: 131- 142.

Bajji, M., Kinet, J. M et Lutts, S., 2002. Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth, and ion content of *Atriplex halimus* (*Chenopodiaceae*) *Can. J. Bot*, Vol. 3: 297-304.

Baker, A.J.M and Brooks, R.R., 1989. Terrestrial higher plants, which hyperaccumulate metallic elements – Review of their distribution, ecology, and photochemistry. *Biorecovery*, Vol, 1:81-126.

Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Reeves, R.D., Smith, J.A.C., 1999. Metal hyperaccumulator plants: a review of ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal polluted soils. Ed. Terry N and Banuelos G. Lewis Publishers Boca Raton, London, New York, Washington, 85-107

Balbi, V et Devoto, A., 2008. Jasmonate signalling network in *Arabidopsis thaliana*: crucial regulatory nodes and new physiological scenarios. *New Phytologist*, Vol. 177 : 301-318.

Balestrasse, K.B., Gallego, S.M., Benavides, M.P., Tomaro, M.L., 2005. Polyamines and proline are affected by cadmium stress in nodules and roots of soybean plants. *Plant and Soil*, Vol.270:343-353.

Barrs, C et Weatherley, P.E., 1968. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves .*Australian Journal of Biological Sciences*, Vol.15: 413-428

Begg et Turner, N.C., 1976.Crop water deficits. *Advan. Agron. CSIRO Division of Plant Industiy, Canbe lTa, ACT (Australia)*, Vol. 28:161-217

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Banasova, V.O., Horak, M., Ciamporova, M., Nadubinska et Lichtscheidl, I., 2006.** The végétation of metalliferous and non-metalliferous grasslands in two former mine regions in Central Slovakia. *Biologia*, Vol 61 :433-439.
- Belkhodja, M., 1996.** Action de la salinité sur le comportement physiologique, métabolique, minérale et recherche de marqueurs moléculaires chez la fève (*Vicia faba* L.).Thèse de Doctorat en Es-science naturelle, 255 P.Université Es Senia Oran
- Belkhodja, M et Bidai Y., 2004.** Réponse des graines d'*Atriplex halimus* L à la salinité au stade de la germination .Sécheresse, Vol.15:331-335.
- Belkhodja, M et Bidai, Y., 2007.** Analyse de la proline pour l'étude de la résistance d'une halophyte *Atriplex halimus* L. à la salinité. These magister Faculté des Sciences, Université d'Oran.
- Belluck, D.A., Benjamin, S.L, and David, S., 2006.** Why remediate?, in:Morel J.-L, Echevarria G, Goncharova N, eds. Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils, Springer Published in cooperation with NATO Public Diplomacy Division 1–23.
- Benata, H., Berrichi, A. B., Reda Tazi, M., Abdelmoumen, H. et Misbah El Idrissi, M., 2006.** Effet des stress saline sur la germination, la croissance et le développement de trois espèces légumineuses : *Acacia tortilis* var. raddiana, *Leucaena leucocephala* et Production Agricole Settat. Recueil des résumés, Vol. 25 :16-17.
- Benahmed, H., Zid, E., El Gazzah, M et Grignon C., 1996.** Croissance et accumulation ionique chez *l'Atriplex halimus* L. Cahiers Agricul, Vol. 5 : 367-372.
- Bendkhal, B et Denden, M., 2012.**Effect of salt stress on growth, anthocyanins, membrane permeability and chlorophyll fluorescence of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) seedlings. *American Journal of Plant Physiology*, Vol. 7(4): 174-183.
- Benhamida et Djeghbala, 2005 .**contribution à la caractérisation biométrique et anatomique de la végétation halophile dans les dépressions de la cuvette de Ouargla (cas du chott Ain El-Beida et de la sebkha de Bamendil). Mémoire Ingénieur en Ecologie végétale et Environnement, Université Kasdi Merbah, Ouargla, 71 P.
- Ben Hassine, H., 2005.** Effets de la nappe phréatique sur la salinisation des sols de cinq périmètres irrigués en Tunisie. *Étude et Gestion des Sols*, Vol.12 : 281-300.
- Benkhalifa, M et Daoud, Y., 1998.** Influence de la bentonite sur les propriétés physiques d'un sol sableux. *Annales de L'INA- EL Harrach*, Vol. 19:18-29.
- Benrebiha, F. Z., 1987.** Contribution à l'étude de la germination de quelques espèces d'*Atriplex* locales et introduites. Mémoire de magister en sciences agronomiques, Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger: 5- 20.
- Bessoule, J.J et Mench, M., 2002.** Sols et déchets – Biomarqueurs métaboliques d'effet et d'exposition des végétaux aux métaux traces : candidats lipidiques. Ademe, Angers
- Bezzala, A., 2005.** Essai d'introduction de l'Arganier (*Arganiaspinosa* (L.) Skeels) dans la zone de M'doukel et évaluation de quelques paramètres de résistance à la sécheresse. Thèse de Magister, Université de Batna, Algérie, p 68.
- Black, H., 1995.** Absorbing Possibilities: Phytoremediation. *Environmental Health Perspectives*, vol. 103:1106-1108.
- Blaylock, M. J., Salt, D.E., Dushenkro, S., Zakhrova, O., Gussman, C.and Raskin, I., 1997.** Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol*, Vol. 31: 860 - 865.
- Blaylock, M.J et Huang, J., 2000.** Phytoextraction of metals. In: Raskin I, Ensley B (Eds) phytoremediation of toxic metals. Using plant to clean up the environment. Wiley inter science, New York, 53-70

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Blum, A., Mayer, J., Gozlan, G., 1983.** Associations between plant production and some physiological components of drought resistance in wheat, *Plant cell and environmental* Vol. 6: 219-225
- Boojar, M.M.A et Goodarzi, F., 2007.** The copper tolerance strategies and the role of antioxidative enzymes in three plant species grown on copper mine. *Chemosphere*, Vol. 67:2138-2147.
- Boulghalagh, J., Berrichi, A., El Halouani, H et Boukroute, A., (2006)** Effet des stress salin et hydrique sur la germination des graines du jojoba (*Simmondsia chinensis* [link] Schneider). Recueil des résumés. Le Premier Congrès National sur l'Amélioration de Production Agricole, Settat, Maroc, p. 24.
- Boon, G.T., Bouwman, L.A., Bloem, J et Romkens, P., 1998.** Effects of a copper-tolerant grass (*Agrostis capillaris*) on the ecosystem of a copper-contaminated arable soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 17: 1964-1971.
- Boumia, O., 2011.** Interaction Fluoridone et Salinité sur la germination des graines du Gombo (*Abelmoschus esculentus* L.). Thèse de magister, Université d'Oran, 142 p.
- Briat, J.F., Lebrun, M., 1999.** Plant responses to metal toxicity. *Plant Biology and Pathology*, Vol. 322, 43-54.
- Bouaouina, S., Zid, E., Hadji, M., 2000.** Tolérance à la salinité, transports ioniques et fluorescence chlorophyllienne chez le blé dur (*Triticum turgidum* L.). *CIHEAM, Options Méditerranéennes Série A*, (40) : 239-243.
- Bouhadjra, 2011.** Etude de l'effet des antioxydants naturels, et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Thèse de magister université Miloud Mamri Tizi-Ouzou
- Boukraâ, D., 2008.** Interaction acide sulfosalicylique et salinité sur la réponse de la proline et des variations minérales chez des plantes juvéniles d'*Atriplex halimus*. Mémoire de magister en biologie végétale, Université Es-Senia, Oran: 81P
- Boulghalagh, J., Berrichi, A., El Halouani, H. et Boukroute, A., 2006.** Effet des stress saline et hydrique sur la germination des graines du jojoba (*Simmondsia chinensis*(link) scheider). Recueil des résumés. Le Premier Congrès National sur l'Amélioration de Production Agricole, Settat, Maroc, p.24.
- Bourelrier, P. H., Berthelin, J., 2008.** Contamination des sols par les éléments en traces: les risques et leur gestion. Rapport n°42 à l'Académie des Sciences. Paris, France: Lavoisier Tec et Doc : p440.
- Bouzoubaa, Z., El Mourid, M., Karrou, M et El Gharous, M., 2001** -Manuel d'analyse chimique et biochimique des plantes. Eds INRA, Maroc.
- Bradford, M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annal. Biochem*, 72: 248-254.
- Brooks, R.R., 1998.** Plant that Hyperaccumulate Heavy Metals. (ed) CAB International, Wallingford, UK .380P
- Brown, G.G. 1995.** How do earthworms affect microflora and faunal community diversity? *Plant and Soil*, Vol.170 : 209-231
- Bruneton, J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec et Doc - Lavoisier, Paris
- Bruneton, J., 1999.** **Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales**, Ed. Médicales internationales Editions Technique et Documentation, Cachan, [S.l.] :647-673.
- Brun. L., 1998.** Etude de l'accumulation, de la biodisponibilité et de la phytotoxicité du cuivre dans des sols viticoles de l'Hérault. Thèse Doctorat ENSA.M, Biologie de l'Evolution et Ecologie, 140 p

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Brunner, I.J., Luster, M.S., Günthardt-Goerg et Frey, B., 2008.** Heavy metal accumulation and phytostabilisation potential of tree fine roots in contaminated soil. *Environment International*, Vol. 152 :559-568.
- Bryssine ., 1961 .** la salinité du sol et ses problèmes
dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/7177/1/BOUMAAZA-Boualem.
- Buer, C.S., Imin, N., Djordjevic, M.A., 2010.** Flavonoïdes: new roles for old molecules. *Journal of Integrative Plant Biology*, Vol. 52: 98-111.
- Bumrela, S., Naik, S., 2011.** Identification of β - carotene and β - sitosterol in methanolic extract of *Dipteracanthus patulus* (Jacq) nees and their role in antimicrobial and antioxidant activity. *International journal of phytomedicine*, Vol., Vol.3: 207p.
- C**
- Calu, G., 2006 :** Effet du stress salin sur les plants. Comparaison entre deux plantes modèles : *Arabidopsis thaliana* et *Thellungiella halophila*
aurore.unilim.fr/theses/nxfile/default/ad2f27f0-4319-4ebc...0/2014LIMO4003
- Calgaroto, N.S., Castro, G.Y., Cargnelutti, D., Pereira, L.B., Gonçalves, J.F., Rossato, L.V., Antes, F.G., Dressler, V.L., Flores, E.M.M., Schetinger, M.R et Nicoloso, F.T., 2010.** Antioxidant system activation by mercury in *Pfaffia glomerata* plantlets. *Biometals*, Vol. 23: 295- 305.
- Calgaroto, N.S., Castro. G.Y., Cargnelutti, D., Pereira, L.B., Gonçalves, J.F., Rossato, L.V, Antes, F.G., Dressler, V.L., Flores, E.M.M., Schetinger, M.R.C et Nicoloso, F.T., 2010.** Antioxidant system activation by mercury in *Pfaffia glomerata* plantlets. *Biometals*, Vol. 23: 295- 305
- Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S. M., Vasson, M. P., Hasselmann, M et Leverage, X., 2006.** Traité de nutrition artificielle de l'adulte. Edition Springer, p 255.
- Cargnelutti, D., Tabaldi, L.A., Spanevello, R.M., Jucoski, G.O, Battisti, V., Redin, M., Linares, C.E.B., Dressler, V.L., Flores, E.M.M., Nicoloso, F.T., Morsch, V.M et Schetinger, M.R.C., 2006.** Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings. *Chemosphere*, Vol.65: 999-1006
- Cassereau, G., 2001.** Contamination des loutres *Lutra* de l'ouest de la France par quelques éléments traces : Cadmium, Cuivre, Mercure, Sélénium et Zinc. Thèse de Doctorat de l'école nationale vétérinaire de Nantes, 146p
- Chadli, R., Belkhodja, M., 2007:** Réponses minérales chez la fève (*Vicia faba* L.) au stress salin. *European journal of scientific Research*, vol. 18.4: 645-654.
- Chaignon, V., 2001.** Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées. Cas de sols viticoles contaminés par des fongicides. Thèse de doctorat, 167 p.
- Chaudhry, T.M., Hayes, W.J., Khan, A.G et Khoo, C.S., 1998.** Phytoremediation focusing on accumulator plants that remediate metal-contaminated soils. *Aust J Ecotoxicology*, Vol.4: 37-51.
- Choudhury, B., Mitra, S et Biswas, A.K., 2010.** Regulation of sugar metabolism in rice (*Oryzasativa* L.) seedlings under arsenate toxicity and its improvement by phosphate. *Physio Mol Bio Plants*, Vol. 16 (1): 59-68.
- Chaney, R.L., Angle, J.S., Broadhurst, C.L., Peters, C.A., Tappero, R.V, Sparks, D.L., 2007.** Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. *J. Environ. Qual*, Vol. 36: 1429-1443.
- Chappuis, P., 1991 .** Les oligoéléments en médecine et biologie. Lavoisier Tee et Doc Palis.
- Chatterjee, J et Chatterjee, C. 2000.** Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. *Environmental Pollution*, Vol. 109:69-74.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chaudhary, P., Dudeja, S.S., Kapoor, K.K., 2004.** Effectivity of host-Rhizobium eguminosarum symbiosis in soils receiving sewage water containing heavy metals. *Microbiological Research*, Vol 159, 121-127.
- Chen, C.T., Chen, T.H., Lo, K.F et Chu, C.Y., 2004.** Effects of proline on copper transport in rice seedlings under excess copper stress. *Plant Sci*, Vol.166: 103-111.
- Chen, Y.X., Wang, Y.P., Lin, Q et Luo, Y.M., 2005.** Effect of copper-tolerant Rhizosphere bacteria on mobility of copper in soil and copper accumulation by *Elsholtzia splendens*. *Environment International*, Vol. 31: 861-866.
- Chen, J.C., Wang, K.S., Chen, H.C., Lu, C.Y., Huang, L.C., Li, H.C., Peng, T.H.C., hang, S .H., 2010.** Phytoremediation of Cr (III) by *Ipomoneaaquatica* (water spinach) from water in the presence of EDTA and chloride: Effects of Cr speciation, *Bioresource Technology*, Vol. 101: 3033–3039
- Chesworth, W., 2008.** *Encyclopedia of Soil Science*, Ed. Springer Dordrecht, Berlin, 902 p.
- C.I.R.A.D., 2004.** Centre de coopération Internationale en recherche agronomique pour le développement analyse des végétaux, 7p
- Clarke, J.M et Mc Mclaig, T.N., 1982.** Excised –leaf water retention capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotype .*Can .J. Plant Sci.* Vol.62:571-578
- Clifford, S.C., Arndt, S.K., Corlett, J.E., Joshi, S., Sankhla, N., Popp, M et Jones, H.G ., 1998** –The role of solute accumulation, osmotic adjustment and changes in cell wall elasticity in drought tolerance in *Ziziphus mauritiana* (Lamk.). *J Exp Bot*, Vol. 49: 967–977.
- Collin, S. et Crouzet, J., 2011.** *Polyphénol et procédée*. Lavoisier, Paris, 337p.
- Cook, C.M., Kostidou, A., Vardaka, E et Lanaras, T., 1997.** Effects of copper on the growth, photosynthesis and nutrient concentrations of *Phaseolus* plants. *Photosynthetica*, vol. 34:179-193.
- Cooper, E.M., Sims, J.T., Cunnigham, S.D., Huang, J.W., Berti, W.R., 1999.** Chelate assisted phytoextraction of lead from contaminated soil. *Journal of Environmental Quality*, Vol. 28:1709-1719.
- Costa, G. et Spitz, E., 1997.** Influence of cadmium on soluble carbohydrate, free amino acids, protein content of in vitro cultured *Lupinus albus*. *Plant Sci*, Vol.128 : 131-140.
- Coïc, Y et Coppenet, M., 1989** .*Les oligo -éléments en agriculture et élevage* - INRA , Paris.
- Cuypers, A.J., Vangronsveld et Clijsters, H., 2000.** Biphasic effect of copper on the ascorbate glutathione pathway in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* seedlings during the early stages of metal assimilation. *Physiologia Plantarum*, Vol. 110: 512-517.

D

- Daas Amiour, S., 2009.** Etude quantitative des composés phénoliques des extraits de trois variétés de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) et evaluation in vitro de leur activité biologique. Thèse Magister en Biologie. Université El-Hadj Lakhdar, Batna, Alger.
- Dacosta, Y.P., 2003.** Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, p. 317. Kohen R. and Nyska A. Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path*, Vol. 30: 620-650
- Daddi Bouhoun, M., Saker, M., Hacini, M., Ould El Hadj, M., Brinis, L., 2011.** Effets de la remontée des eaux phréatiques sur la salinisation des sols dans les Ghouts à Oued Souf (Sud Est Algérien). *Annales des Sciences et Technologie*, Vol. 3 : 25-27.
- Dahmani-muller, H., Van Oort, F., Gelie, B., Balabane, M., 1999.** Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environmental Pollution*, Vol. 109, 1-8.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Datta, J. K., Nag, S. A., Banerjef et Mondal, N. K., 2009.** Impact of salt stress on five varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under laboratory condition, Vol.13: 93-97.
- De Abreu, N., Mazzafera, P., 2005.** Effect of water and temperature stress on the content of active constituent of *Hypericum brasiliense* choisy. Plant physiology and Biochemistry, Vol: 43(3) ,p.241-248.
- Debez, A., Chaibi, W. et Bouzid, S., 2001.** Effet du NaCl et de régulateurs de croissance sur la germination d'*Atriplex halimus* L. Agriculture, Vol. 10 :8-135.
- Dehak, D.K., 2013.** Méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles: Polyphénols.Thèse de doctorat . Université de Kasdi Merbah Ouargla, Alger.
- Del Rio, M. R ., Font, C., Almela, D., Velez, R., Montoro et Bailon, A.D ., 2002.** Heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guadiamar river area after the toxic spill of the *Aznalcollar mine*. Journal of Biotechnology, Vol. 98:125-137.
- Demirevska-Kepova, K.L., Simova-Stoilova, Z., Stoyanova, R., Holzeret, U., Feller., 2004.** Biochemical changes in barley plants after excessive supply of copper and manganese. Environmental and Experimental Botany, Vol. 52: 253-266.
- Desrochers, R.E et Anand, M., 2005.** Quantifying the components of biocomplexity along ecological perturbation gradients. Biodiversity and Conservation, Vol. 14, 3437-3455.
- Djeddi, H., 2006.** Utilisation des eaux d'une station d'épuration pour l'irrigation des essences forestières urbaines. Mémoire de Magistère.. Université Mentouri Constantine. 92.
- Djeridane, A., Yousfi, Y., Brunel, J.M., Stocker, P., 2010.** Isolation and characterization of anew steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. Food Chem Toxicol, 48: 2599–2606
- Dinakar, N., Nagajyothi, P.C., Suresh, S., Damodharam, T et Suresh, C., 2009.** Cadmium induced changes on proline, antioxidant enzymes, nitrate and nitrite reductases in *Arachis hypogaea* L. J Environ Bio, Vol 30 (2): 289-294.
- Douaik, A., Meirvennea, M. V., Toth, T., 2005.** Soil salinity mapping using spatiotemporal kriging and Bayesian maximum entropy with interval soft data. Geoderma, Vol. 128: 234- 248.
- Douaoui, A et Hartani T., 2007.** Impact de l'irrigation par les eaux souterraines sur la dégradation des sols de la plaine du Bas-Chélif. Actes du troisième atelier régional du projet Sirma, Nabeul, Tunisie, 5p.
- Dreir, W et Goring, M., 1974.** Der einfluss boher .Salzkonzentrationenauf physiologische parameter von aismurzelu.Wiss.der h.V.Berlin, Nath.Natur wiss, Vol.23:641-646.
- Dubey, R.S. and Singh, A.K., 1999.**Salinity Induces Accumulation of Soluble Sugars and Alters the Activity of Sugar Metabolising Enzymes in Rice Plants. Biologia Plantarum, Vol.42: 233-239
- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P., Smith, F., 1956.** Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Analytical Chemistry, Vol. 28: 350- 356.
- Dumestre, A, S., Sauve, M., McBride, P., Baveye et J Berthelin., 1999.** Copper speciation and microbial activity in long-term contaminated soils. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, vol. 36: 124-131.
- Dutuit, P., Pourrat, Y., Dodeman, V. L., 1991.** Stratégie d'implantation d'un système d'espèces adaptées aux conditions d'aridité du pourtour méditerranéen. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Ed. Aupelpuref. John Libbey Eurotext. Paris : 6.5-73

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

E

- Eapen, M., Rubinstein, P., Zhang, M., Stevens, C., Kurtzberg, J., Scaradavou, A., Loberiza, F. R., Champlin, R. E., Klein, J. P., Horowitz, John, M.M., Wagner, E., 2007. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukemia: a comparison study, Vol. 369: 1947–54
- Ekmekçi, Y., Tanyolac, D et Ayhan, B., 2009 .A crop tolerating oxidative stress induced by excess lead in maize. *Acta Physio Plant.*31: 319-330.
- El djaafari, S., 2000. Durum wheat breeding for abiotic stresses resistance: Defining physiological traits and criteria. *Option Mediterranean*, Vol .40:256.
- El Iklil, Y., Karrou, M., Mrabet, R. et Benichou, M., 2002. Effet du stress salin sur la variation de certains métabolites chez *Lycopersicon esculentum* et *Lycopersicon sheesmanii*. *Canadian journal of plant science*, Vol. 82:177-183
- El Midaoui, M., Benbella, M., Aït Houssa, A., Ibriz, M. et Talouizte, A., 2007. Contribution à l'étude de quelques mécanismes d'adaptation à la salinité chez le tournesol cultivé (*Helianthus annuus L.*) *Revue HTE*, Vol.136: 29-34.
- El Mzouri, E., Chiriyaa, A., El Mourid M., Laamari, A., 2000. Improving feed resource and quality in the dryland areas of Morocco by introducing the strip-alley cropping System. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). *Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria), Vol. II: 340-347.*
- El Shaer, H.M et Kanill, H.M., 1998. Potential of atriplex species as fodder shrubs under the arid condition of Egypt .*Proc VIII .Congress of Ecology .INTICOL, Florence, Italy .19-25*
- Elzam et Epstein., 1969. Salt relations of two grass species differing in salt tolerance. II. Kinetics of the absorption of K^+ , Na^+ , and Cl^- by their excised roots. https://www.researchgate.net/.../38072725_Mechanisms_of_Cl_tra
- Environmental Protection Agency, E.P.A., 2001. Brownfield's technology primer selecting and using phytoremediation for site cleanup. In United States Environmental Protection Agency (USEPA) The Brownfield's and Land Revitalization Technology Support Center
- Evans, M., 1997. Status of phytoremediation technology. In Environmental Protection Agency (EPA), *Recent Developments for In Situ Treatment of Métal Contaminated Soils* Washington, D.C, E.P.A: 23-32

F

- FAO., 1971. Food and Agriculture Organization
- Favier, A., 1990. Le métabolisme du cuivre, voir Chappuis 1991. www.univ-bejaia.dz/.../Contribution%20à%20l'étude%20d'accumulation%20des%20
- Favas, P.J.C., Pratas, J., Varun, M., D'Souza, R et Paul, M.S., 2014. Phytoremediation of Soils Contaminated with Metals and Metalloids at Mining Areas: Potential of Native Flora, "Environmental Risk Assessment of Soil Contamination", Vol.17: 485 – 51
- FLOSS, H.G., 1997. Natural products derived from unusual variants of the shikimate pathway. *Natural Product reports*, Vol.14.
- Franchin, C.T., Fossati, E., Pasquini, G., Lingua, S., Castiglione, P., Torrigiani et Biondi, S., 2007. High concentrations of zinc and copper induce differential polyamine responses in micropropagated white poplar (*Populus alba*). *Physiologia Plantarum*, Vol.130 :77-90.
- Francllet, A., Le Houerou, H.N., 1971: Les Atriplex en Tunisie et en Afrique du Nord. Rome: Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture: 249- 271.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

G

- Gajewska, E et Sktodowska, M., 2007.** Relations between Tocopherol, chlorophyll and lipid peroxides contents in shoots of Ni-treated wheat, *Journal of Plant Physiology*, Vol.164: 364-366
- Gale, J., 1967.** Changes in the water balance and photosynthesis of onion, bean and cotton plants under saline conditions. *Plant*, Vol.20: 408-20.
- Gale, J et Poljakoff-Mayber, A., 1970 .** Interrelations between growth and photosynthesis of salt bush (*Atriplex halimus* L.) grown in saline media .*J. bio science*.Vol.23:937-945
- Gale, J., 1975.** Systematic errors in measurement of transpiration and photosynthesis by infrared gas analyses with varying oxygen: nitrogen ratios in the background gas. *J Exp Bot*, Vol. 26: 702-704.
- Garbisu, C et Alkorta., 2001.** Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresource Technology*
- Gaucher, G., Burdin., 1974.** Géologie, géomorphologie et hydrologie des terrains salés, presses, presses Universitaire de France, 230 P.
- Ghasemzadeh. A., Jaafar, H.Z.E., 2012.** Effect of salicylic acid application on biochemical changes in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *J. Med. Plants Res*, Vol. 6:790-795.
- Ghellai, M., 2013.** Action combinée de la salinité et du plomb sur les réponses physiologiques des *Atriplex* .Mémoire de Magister . Université Es-sénia.Oran
- Ghosh, M. and Singh, S.P., 2005).** A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of this by products. *Applied ecology and environmental research*, vol.3:p 1
- Ginocchio, R., 2000.** Effects of a copper smelter on a grassland community in the Puchuncavi Valley, Chile. *Chemosphere*, Vol. 41: 15-23.
- Gopal, R., Rizvi, A.H., 2008.** Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish. *Chemosphere*, Vol .70(9):1539–1544
- Grantz, D.A., Vaughn, D.L., Farber, R., Kim, B., Zeldin, M., Van Curen, T., Camp-bell, R., 1998.** Seeding native plants to restore desert farmland and mitigate fugitive dust and PM 10 . *Journal of Environmental Quality*, Vol. 27:1209–1218.
- Greenway, H., Munns, R., 1980.** Mechanism of salt tolerance in non-halophytes. *Annual Review of Plant Physiology*. Vol. 3:149-190.
- Greipsson, S., 2011.** Phytoremediation. *Nature Education Knowledge*, Vol. 3: 10
- Grignon, C., Zid, E., 1991.** Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydrique. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides, d'AUPELF-UREF. Paris, Actualité scientifique.
- Gopal, R et Rizvi, A.H, 2008.** Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish. *Chemo sphere*, Vol. 70: 1539-1544.
- Gougue, A., 2005.** Impact de la salinité sur la germination et la croissance des halophytes, mémoire de d'ingénieur en agronomie pastorale. Université de Djelfa, 75 p.
- Gouvernement du Canada., 2008.** Phytoremediation. *In* Gouvernement du Canada. *Bio Basics*. Page 742 consultée le 10 mars 2013).
- Goudot-perrot, A.1983.** Les métaux des mécanismes de la vie. Maloine s.a éditeur-Paris .
- Guerrier, G., 1984.** Relations entre la tolérance ou la sensibilité à la salinité lors de la germination des semences et les composantes de la nutrition en sodium. *Biologia Plantarum*, Vol. 26: 22-28.
- Guo, X.M., Niu, D.K., Liu, Y.Q., Du, T.Z., Xiao, S.Z et Ye, X.H., 2004.** Vegetation restoration of different types of barren ecosystems in Jiangxi province. *in* S, F.J. Zhao, T. Edelman, B. Marschner, L. Newman and T. Vanek, editor. 2nd International Conference on Soil Pollution and Remediation, Nanjing, China. J. Japenga: 293-301

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Gupta, H.A., Cuypers, J., Vangronsveld, H., Clijsters., 1999.** Copper affects the enzymes of the ascorbate-glutathione cycle and its related metabolites in the roots of *Phaseolus vulgaris*. *Physiologia Plantarum*, Vol. 106: 262-267.
- Gupta, A.K and Sinha, S., 2007.** Assessment of single extraction methods for the prediction of bioavailability of metals to *Brassica juncea* L. Czern. (Var. Vaibhav) grown on tannery waste contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 149: 144-150

H

- Hadjadj, S., 2009.** Contribution à l'étude de l'effet de la salinité sur des marqueurs biochimiques (proline et sucres solubles) de plantes juvéniles d'*Atriplex halimus* L. et d'*Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. Mémoire de Magister en Biochimie et analyse des bioproduits, Univer, Kasdi Merbah, Ouargla, 100 P.
- Hadjadj, S., Djerroudi, O., Bissati, S., 2011.** Etude comparative des mécanismes biochimiques de tolérance au stress salin de deux espèces d'atriplex: *Atriplex halimus* L. et *Atriplex canescens* (Purch) Nutt. *Algerian journal of arid environment*, Vol. 2: 3-10.
- Hajlaoui, H., Denden, M., El Ayeb, N., 2009.** Differential responses of two maize (*Zea mays* L.) varieties to salt stress: Changes on polyphenols composition of foliage and oxidative damages. *Industrial Crops and Products*, vol. 30(1): 144-151.
- Hamed, K.B., Chibani, F., Abdelly, C., Magne, C., 2014. Growth, sodium uptake and antioxidant responses of coastal plants differing in their ecological status under increasing salinity. *Biologia*, Vol.69:193–201.
- Hamidi, M., 2000.** Contribution à l'étude de l'impact des plantations d'*Atriplex canescens* sur la diversité biologique des écosystèmes steppiques dans la région du Zahrez (Zaâfrane), thèse d'ingénieur, 100 p.
- Hall, J.L., 2002.** Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolérance. *Journal of experimental Botany*, Vol. 53:1-11.
- Harborne, J. B., Williams, C.A., 2000.** Advances in flavonoids research since 1992. *Phyto Chemistry*, Vol.55: 481-504.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K et Bohnert, H.J., 2000.** Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Biology and Molecular Biology* 51: 463-499.
- Hassani, A., Déliai, A., Belkhodja., M, Kaid- Harche, M., 2008.** Effet de la Salinité sur l'eau et certains osmolytes chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.). *European Journal of scientific Research* Vol. 23: 61-69.
- H.C.D.S, Haut Commissariat au Développement de la Steppe., 1996.** Notion bibliographique sur quelques plantes fourragères et pastorales, D.F.R.V, Djelfa, 18 p.
- He, Y., et Zhu, Z.J., 2008.** Exogenous salicylic acid alleviates NaCl toxicity and increases antioxidative enzyme activity in *Lycopersicon esculentum*. *Bio Plant*, Vol.52 (4): 792-795
- Heller, R., Esnault, R., et Lance, C., 2004.** physiologie végétale. N°II développement. 6 éditions. Edit. Dunod, 366p.
- Henry, J.R., 2000.** An Overview of the Phytoremediation of Lead and Mercury. Washington, D.C., U.S. Environmental Protection Agency, 55p.
- Hill, M. K., 2004.** Metals, in: *Understanding environmental pollution*, 2 nd Ed. Cambridge University Press, 350-371.
- Hoagland, D.R., Arnon, D.I., 1938.** The water-culture method for growing plants without soil. *Calif. Agric. Exp. Sta. Cir.* 347, 1- 39.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Hoenig, M., De Kersabiec, A.M., 1989.** Atomisation électrothermique en spectrométrie d'absorption atomique, ed. Masson, Paris, 296 p.
- Hoffman, G. J., Phene, J.C and Rawlin Measuring, S. L., 1970.** Soil Matric Potential in situ by Sensing Heat Dissipation within a Porous Body: I. Theory and Sensor Construction, Vol. 35:27-33.
- Hoffman, G.J., Phene, C.J., 1971.** Effect of constant salinity levels on water use efficiency of bean and cotton. Trans ASAE, Vol. 14: 1103-6.
- Hosni, S., 2008 .**La tolérance au sel (rapport).écophysioles végétales <http://hosni.unblog.fr/2009/01/13/la-tolérance-au-sel/>
- Houala, F., Ferjani, H., Ben El- Hadj, S., 2007.**Effet de la salinité sur la répartition des cations (Na^+ , K^+ et Ca^{++}) et du chlore (Cl^-) dans les parties aériennes et les racines du ray-grass anglais et du chiendent. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, Vol 3 : 235- 244.
- Hutchinson, T.C et Symington, M.S., 1997.** Persistence of metal stress in a forested ecosystem near Sudbury, 66 years after closure of the O'Donnell roast bed. Journal of Geochemical Exploration, Vol.58 :323-330.
- Huang, J.W., Chen, J., Berti, W.R., Cunningham, S.D., 1997.** Phytoremediation of lead contaminated soil: Role of synthetic chelates in lead phyto extraction. Environmental Science and Technology, Vol. 31 :800 -805

I

- Interstate Technology et Regulatory Cooperation Work Group, I.T.R.C., 1997.** *Emerging technologies for the remediation of metals in soils. Washington, D.C., ITRC and Phytotechnologies Teams, 15 p.*
- IPTRID., 2006.** Conférence électronique sur la salinisation: Extension de la salinisation et Stratégies de prévention et réhabilitation, 12p.

J

- Jabnour, M., 2008 .**Adaptation des plantes à l'environnement : Stress salin Présentation Power Point.
- Jarvis, M.D and Leung, D.W.M., 2002.** Cheated lead transport in Pinus radiata: an ultra structural study. Environmental and Experimental Botany, Vol. 48 : 21 -32.
- Jha, A.B et Dubey, R.S., 2004.** Carbohydrate metabolism in growing rice seedlings under arsenic toxicity. Plant Physio, Vol. 123: 1029-1036.
- Jones, H. G., Flowers, T. J., Jones, M .B., 1989.** Plants under stress. Cambridge, Cambridge University Press.

K

- Kabata-Pendias, A et Pendias, H., 1992.** Trace elements in soils and plants, 2nd Edition. CRC press, Boca Raton, FL, 365 p.
- Kabeer, R., Varghese, R., Kochu, J. K., George, J., Sasi, P. C and Poulouse, S. V., 2014.** Removal of Copper by Eichhorniacrassipes and the Characterization of Associated Bacteria of the Rhizosphere System, Environment Asia, Vol.7 (2):19-29.
- Kärenlampi, S., Schat, H., Vangronsveld, J., Verkleij, J.A.C., van der Lelie, D., Mergeay, M., Tervahauta, A.I., 2000.** Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils. Environ. Pollut, Vol. 107:225–231.
- Kehrer, J.P., 2000.** The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. Toxicology, Vol. 149:43- 50.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Khalili, M., Hasanloo, T., Tabar, S.K.K., Rahnama, H., 2009.** Influence of exogenous salicylic acid on flavonolignans and lipoxygénases activity in the hairy root cultures of *Silybum marianum*. *Cell Biol. Int.*, Vol.33: 988 -994.
- Khedim, I., Reguieg Yssaad, H. A ., Topcuoglu,B., 2017.** Effect of heavy metals (copper, zinc, cadmium and lead) on the accumulation of proline and soluble sugars in *Atriplex canescens* ,(Pursh) Nutt. *International Journal of Biosciences, IJB*, Vol. 11, No. 3 : 76-85
- Khedr, A.H., Abbas, M.A., Amal, A.W., Quick, P., Gaber, M.A., 2003.** Proline induces the expression of salt-stress-responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancreaticum maritimum* L. to salt-stress. *J. Exp. Bot.*, Vol. 54 (392): 2553-2562.
- Khiali, F., 1991.** Contribution à l'étude d'une halophytes *Atriplex halimus* L cas de périmètre d'El-Massrane (Djelfa), thèse de magistère. Ed INA El-Harrach, Alger, 65 p.
- Khizar, H. B., Sehrish, A., Khalid, N., Khalid, H., Ejaz, H. S., Raja, U. S., Aqsa, T et Aneela, K., 2013.** Effect of Heavy Metal Lead (Pb) Stress of Different Concentration on Wheat (*Triticum aestivum*L.). *Middle-East Journal of Scientific Research*, Vol. 14(2): 148-154.
- Khosravinejad, F., Heydary, R., Farboodnia, T., 2009.** Effect of salinity on organic solutes contents in barley. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, Vol.12 (2):158-162.
- Kim, Y .H., Hamayun, M. A., Khan, L., Chae, I. N., Sang, M., Han, K. H and Lee, I.J., 2009.** Exogenous application of plant growth regulators increased the total flavonoids content in *Taraxacum officinale* Wigg. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 8 (21):5727 - 5732
- Kinet, J.M., Benrebaha, F.Z., Bouzid, S., Lailhacar, S., et Dutuit, P., 1998.**réseau *Atriplex*. Allier biotechnologie et écologie pour une sécurité alimentaire accrue en régions arides et semi-aride. *Cahier agricultures*, Vol. 7, N°6 : 505-509.
- Kloppmann, W., Bourhane, A., Asfirane, F., 2011.** Méthodologie de diagnostic de l'origine de la salinité des masses d'eau, BRGM, Orléans, 123p.
- Kopittke, P.M., Asher, C.J, Kopittke, R.A et Menzies, N.W., 2007b.** Toxic effects of Pb²⁺ on growth of cowpea (*Vignaun guiculata*). *Environ Poll*, Vol. 150: 280-287
- Kováčik, J., Gruz, J., Backor, M., Strnad, M., Repečak, M., 2009.**Salicylic acid induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Cell Res*, Vol. 28:134 - 143
- Ksouri, R1., Megdiche , W., Debez ,A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly, C., 2007.**Salinity effects on polyphénol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*.*Plant Physiol Biochem*, Vol. 45: 244-249
- Kummer, P., Dushenkov, V., Motto, H et Roskin, I., 1995.**Phytoextraction –The use of plant to remove heavy-metals from soils .*Environ Sci Technol*, Vol.29: 1232-1238

L

- Ladislav, S., El-Mufleh, A., Gérente, C., Chazarenc, F., Andrès, Y.et Béchet, B., 2011.,** Potential of Aquatic Macrophytes as Bioindicators of Heavy Metal Pollution in Urban Storm water Runoff, *Water Air Soil Pollut*, Vol 223:877–888 .
- Laguerre, G., Courde, L., Nouaim, R ., Lamy, I ., Revellin,C ., Breuil, M.C et Chaussod, R., 2006.** Response of rhizobial populations to moderate copper stress applied to an agricultural soil. *Microbial Ecology*, Vol. 52:426-435.
- Lahlou, A., 2000.** Quel environnement pour l'Afrique du nord. Ed. Dar El Qualam, Rabat (Maroc), 265 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Lailhacar, S., Rivera, H., Silva, H et Caldentey, J., 1996.** Les espèces fourragères arbustives d'*Atriplex* sont aussi productive en bois pour la consommation des petits paysans des régions arides. Facult des sciences Agraire et forestière, Univ du Chilli, Santiago.
- Laureysens, I., Blust, R., Temmerman, D.L., Lemmens, C., Ceulemans, R., 2004.** Clonal variation in heavy metal accumulation and biomass production in a poplar coppice culture: I. Seasonal variation in leaf, wood and bark concentrations. *Environ. Pollut*, Vol. 131: 485-494.
- Lazof, D., Cheesman, J.M., 1988.** Sodium and Potassium compartimentation and transport in the roots of intact lettuce plants. *Plant Physiol*, Vol.88: 1279-1284.
- Lhuillier, A., 2007.** contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *agauria salicifolia* hook.f ex oliver, *agauria polyphylla* baker (ericaceae), *tambourissa trichophylla* baker (monimiaceae) et *embelia concinna* baker (myrsinaceae). Thèse doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse
- Lee, J.O., 1979.** Précis de chimie minérale, Dunod Université. Bordas, Paris, 282 p.
- Lee, G., Carrow, R.N. and Duncan, R.R., 2004.** Photosynthetic responses to salinity stress of halophytic *seashore paspalum* ecotypes. *Plant Science*, Vol.166: 1417-1425.
- Leduc, F., Whalen, J.K et Sunahara, G.I., 2008.** Growth and reproduction of the earthworm *Eisenia fetida* after exposure to leachate from wood preservatives. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 69 :219-226.
- Le Houérou, H.N. et Pontanier., 1988.** Les plantations sylvopastorales dans la zone aride de Tunisie. *Rev: Pastoralisme et développement*, Montpellier, pp : 16 - 23
- Le Houérou, H. N., 1992.** The rôle of saltbushes (*Atriplex* spp.) in arid land rehabilitation in the: Osmond C.B., Bjorkman O., et Anderson D.J., 1980 -physiological process in plant ecology. *Toward a semi arid lands*. Ed. Academic press. INC, New York (U.S.A), pp: 601- 642.
- Lei, Y.B., Korpelainen, H., Li, C.Y., 2007.** Physiological and biochemical responses to high Mn concentrations in two contrasting *Populus cathayana* populations. *Chemosphere*, Vol. 68: 686-694.
- Lepengue., Mouragadja,I., Ibrahim,B., Ake ,S., M'batchi, B., 2012.**Réponse du maïs (*Zea mays*var. LG 60) au stress salin : étude de la synthèse de quelques composés biochimiques. *Journal of Animal et Plant Sciences*, Vol. 14, Issue 1: 1866 -1872
- Levine, A., Tenhaken, R., Dixon, R et Lamb, C., 1994.** H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*, Vol.79: 583-593.
- Lewis, S., Dokin, M.E., Depledge, M.H., 2001.** Hsp 70 expressions in *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) exposed to environmental stressors. *Aquat Toxicol*, Vol.51: 277- 291.
- Lichtenthaler, H.K., 1987.** "Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembranes", *Methods in Enzymology*, vol.148:350-382.
- Liu. X., Zhang, S., Shan, X.Q et Christie, P., 2007 b.** Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidative enzyme responses to cadmium and arsenate co-contamination. *Ecotoxicol Environ*, Vol. 68: 305-313.
- Lombi, E., Zhao, F.J., Dunham, S.J. and McGrath, S.P., 2001b.** Cadmium accumulation in population of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi ecklonii*. *New Phytologist*, Vol.145: 11- 20.
- Lotmani, B., Mesnoua, M., 2011.** Effects of copper stress on antioxidative enzymes, chlorophyll and protein content in *Atriplex halimus*. *African Journal of Biotechnology*, vol.10 :50.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Loyer, 1991.** Classification des sols salés : les sols Salic. Cahiers ORSTOM, sér. Pédol, vol, XXVI: 51-61.
- Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K., Biro, L., 2003.** The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. Journal of Actualité Biological, Vol.47: 119-125.
- Luo, C., Shen, Z., Li, X., Alan, J.M., Baker., 2006.** Enhanced phytoextraction of Pb and other metals from artificially contaminated soils through the combined application of EDTA and EDDS, Chemosphere, Vol. 63:1773–1784
- M**
- Maalem, S., 2002.** Etude écophysiological de trois espèces halophytes du genre *Atriplex* (*A. Canescens*, *A. halimus* et *A. nummularia*) soumises à l'enrichissement phosphaté. Thèse de magistère en physiologie végétale et applications biotechnologiques. Université Baji Mokhtar, Annaba, Algérie, 76p.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A and Jay – Allemand, C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne : p 4-5
- Maenpaa, K.A., Kukkonen, J.VK et Lydy, M.J., 2002.** Remediation of heavy metal-contaminated soils using phosphorus: Evaluation of bioavailability using an earthworm bioassay. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 43: 389-398.
- Maillard, J., 2001.** Le point sur l'irrigation et la salinité des sols en zone sahélienne. Risques et recommandations. Handicap International : 34p.
- Manchado, P. et Cheynier, V., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. Tec et Doc, Paris :398p.
- Marigomez, I., Kortabitarte, M et Dussart, G.B.J., 1998.** Tissue-level biomarkers in sentinel slugs as cost-effective tools to assess metal pollution in soils. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 34: 167-176.
- Marques., Ana, P.G.C., Moreira, H., Rangel António, O.S.S., Castro Paula M.L., 2009 b.** Arsenic, lead and Nickel accumulation in *Rubus ulmifolius* growing in contaminated soil in Portugal. J. Hazard. Mater, Vol. 165:174–179
- Marques Ana, P.G.C., Rangel, A., Onio, O. S. S., and Castro Paula, M. L, 2009 a.** Remediation of Heavy Metal Contaminated Soils: Phytoremediation as a Potentially Promising Clean-Up, Technology Critical Reviews in Environ. Sci. Technol, Vol.39 : 622–654.
- Master I, Recherche biotechnologie : du gène à la molécule** Spectro Sciences, article 23, 10p.
- McGrath, S.P., 1998.** Phytoextraction for soil remediation. In R.R. Brooks (ed.) Plants that hyperaccumulate heavy metals. CAB Int., Wallingford, UK: 261-287.
- McGrath, S.P., 1998.** Phytoextraction for soil remediation. In R.R. Brooks (ed.) Plants that hyperaccumulate heavy metals. CAB Int., Wallingford, UK: 261-287
- Mehani, M., Bissati, S., Djeroudi, O., 2012.** Effet d'eau de mer sur deux paramètres hydriques (turgescence et transpiration) de jeunes plants d'*Atriplex canescens* (Effect of seawater on two water parameters (turgescence and transpiration) of young plants of *Atriplex canescens*. J. Mater. Environ. Sci, Vol.3 (5) : 840-845
- Meharg, A.A., 2005.** Mechanisms of plant resistance to metal and metalloid ions and potential biotechnological applications. Plant and Soil, Vol .274:163-174.
- Mench, M., Vangonveld, J., Lepp, N., Ruttens, A., Bleeker, Pet Gebelen, W., 2003.** Use of soil amendments to attenuate trace element exposure: sustainability, side effects and failures. In R. H. M. McLaughlin, editor. Natural attenuation of trace element availability in soils. SETAC Publications.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Mench, M., Didier, V.L., Loffler, M., Gomez, A et Masson, P., 1994 a.** A Mimicked in-Situ Remediation Study of Metal-Contaminated Soils with Emphasis on Cadmium and Lead. *Journal of Environmental Quality*, Vol.23: 58-63.
- Metternicht, G.I., Zinck, J.A., 2003.** Remote sensing of soil salinity: potentials and constraints. *Natural Resources Conservation Service*, Washington, 338 p.
- Mezni, F., Maaroufi, A., Msallem, Met., 2012.** Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia lentiscus* L. fruit oils. *J Med Plants Res*, Vol. 6:5266–71
- Michaud, A.M., Chappellaz, C et Hinsinger, P., 2008.** Copper Phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). *Plant and Soil*, Vol. 310, 151-165.
- Milane, H., 2004.** a quercétine et ses dérivés: molécules : caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse Doctorat université louis pasteur Strasbourg .<http://scd-theses.u-strasbg.fr/831/01/Milane2004.pdf>
- Mishra, P., et Dubey, R.S., 2008. Effect of aluminium on metabolism of starch and sugars in growing rice seedlings. *Acta Physio Plant*, Vol.30: 265-275.
- Mitsuya, S., Tanigochi, M., Miake, H. et Takabe, T., 2006.**Overese pression of RCI 2A decreases Na⁺ uptak and mitigates salinity –induced damages in arabidopsis thaliana plants. *Physiologia Plantarum*, Vol. 128: 95-102.
- Montillet, J.L., Cacas, J.L., Garnier, L., Montane, M.H., Douki,T ., Bessoule,J.J ., Polkowska- Kowalczyk,L., Maciejewska, U., Agnel, J.P., Vial, A et Triantaphylides,C.,2004.** The upstream oxylipin profile of *Arabidopsis thaliana*: a tool to scan for oxidative stresses. *The Plant Journal*, vol.40: 439-451.
- Morel, J.L., Bitton, G., Schwartz, C., Schiavon, M., 1997.** Rapport pour l'OCDE Ecotoxicology: responses, biomarkers and risk assesment.
- Morrison, G.H., 1979 .**Role of Trace Elements in Biology. C.R.C Critical Reviews in Analytical Chemistry. P: 8.
- Mozafar, A and Goodin, J.R., 1970.** Vesiculated hairs: a mechanism for salt tolerance in *Atriplex halimus* L. *Plant Physiology*, Vol. 45:62-65.
- Mulas, M., et Mulas, G., 2004.** Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification. *SMAP*: 112 P.
- Mulligan, C.N., Yong, R.N and Gibbs, B.F., 2001.** Remediation technologies for metal contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering Geology*, Vol.60:193-207.
- Mulligan C.N., Yong, R.N., 2004,** Natural attenuation of contaminated soils. *Environment International*, Vol. 30, Issue 4, 587–601.<http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2003.11.001>
- Munns, R., Schachtman, D. P and Condon, A.G., 1995.** The significance n of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley. *Aust. J. Plant Physiol*, Vol.22:561–569
- Muñoz, N., González, C., Molina, A., Zirulnik, F et Luna, C.M., 2008.**Cadmium-induced early changes in O₂•-, H₂O₂ and antioxidative enzymes in soybean (*Glycinemax*L.) leaves. *Plant Growth Regul*, Vol. 56: 159-166.

N

- Navarro, A. R., Rubio, F., 2006.**High-affinity potassium and sodium transport systems in plants *Journal of Experimental Botany*, Vol. 57(5):1149-1160
- Ndour, P. et Danthu, P., 2000.**Effet des contraintes hydrique et saline sur la germination de quelques acacias africains. *Projet National de Semences Forestières du Senegal*. 11 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Neggaz, N.E., et Reguieg Yssaad, H. A., 2018.** Effect of lead stress on polyphenols, flavonoids, and proline contents in radish (*Raphanus sativus* L.). *International Journal of Biosciences, IJB*, Vol. 12, 5 : 135-144, 2018
- Neill, O.S., Gould, K.S., Kilmartin, P.A., Mitchell, K.A and Markham, K. R., 2002.**Antioxidant capacities of green and cyanic leaves in the sun species, *Quintinia serrata* Samuel *Functional Plant Biology*, Vol. 29:1437 - 1443.
- Newman, L.A., Reynolds C.M., 2004.** Phytodegradation of organic compounds. *Current Opinion in Biotechnology*, Vol.15: 225-230.
- Ngasamy, P., 2006.**World salinization with emphasis on Australia .*Journal of Experimental Botany*, Vol.57: 1017 1023.
- Nilson, S.H., and Assmman, S.H., 2007.** the control of transpiration. In sights from *Arabidopsis*. *Plant physiology*, Vol.143: 19-27.
- Noctor, G et Foyer, C.H., 1998.** Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Vol.49: 249-279.

O

- Oison, P.E., Reardon, K.F. and Pilon-Smits, E.A.H., 2003.** Ecology of Rhizosphere Bioremediation. *In* McCutcheon, S.C. et Schnoor, J.L., *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*: p. 317-354
- Omani, L., Robock, A., Stenchikov, G., Thordarson, T., Koch, D., Shindell, D and Gao,C., 2006.** Modeling the distribution of the volcanic aerosol cloud from the 1783 Laki Eruption. *J. Geophys. Res.*, **111**, D12209, doi: 10.1029/2005JD006899.
- OMS, IPCS., 1998.** Environmental Health Criteria n°200: copper. World Health Organisation International Programme on chemical Safety.
- Osmond, C.B., Bjorkman, O., Anderson, D.J., 1980.** Physiological processes in plant ecology .Berlin : Springer-Verlag.
- Ouerghi, Z., Zid, E., Hadji, M et Soltani, A., 2000.** Comportement physiologique du blé dur (*Triticum durum* L.) en milieu salé .in Royo C ., Nachit MM., Difonzo N ., Araus JL., (eds).Durum wheatim prouvement in the mediterranean région :New challenges : l'amélioration du blé dur dans la région méditerranéenne : Nouveaux défis. Zaragoza : CIHEAM.IAMZ :309-313.
- Ouerghi, Z., Zid, E., Hajji, M et Soltani, A., 1998.** Comportement physiologique du blé dur (*Triticum durum* L.) en milieu salé. CIHEAM - Options Méditerranéennes : 309- 313.
- Ouerghi, Z ., Zid, E., Hadji, M ., Soltani, A., 2000.** Comportement physiologique du blé dur (*Triticum durum* L.) en milieu salé. In ROYO C., NACHIT MM., DIFONZO N., ARAUS JL., (eds). *Durum wheat improverment in the mediterranean region: New challenges: l'amélioration du blé dur dans la région méditerranéenne: Nouveaux défis.* Zaragoza: CIHEAM. IAMZ: 309-313.
- Ould el Hadj-Khelil, A., 2001.** Contribution à l'étude de réponses métaboliques de la tomate à la salinité. Thèse de doctorat en Science de la Vie et de l'Environnement, Université de Rennes-I (France) : 117 P.

P

- Pacheco, A.C., Cabral, C. D., Das Fermino, S. É .S and Aleman, C .C., 2013.**Salicylic acid- induced changes to growth, flowering and flavonoids production in marigold plants. *Journal of Medicinal Plant Research*, Vol. 7(42):3158 -3163.
- Pasquier, G., 2012.** Etude de l'impact de l'Esca sur la qualité des raisins par une approche protéomique. Université Bordeaux, 2, 340 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Paul, M.H., Planchton, C., Ecochard, R., 1979.** Etude des relations entre le développement foliaire, le cycle de développement et la productivité chez le soya. *Amelio plant*, Vol.29:479-492
- Peer, W.A., Murphy, A.S., Brown, D.E., Tague, B.W., Muday, G.K., Taiz, L., 2001.** Flavonoids accumulation patterns of transparent testa mutants of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, Vol. 126:536–548.
- Peña, S.C et Pocsidio, G.N., 2007.** Influence of copper on the feeding rate, growth and reproduction of the golden apple snail, *Pomacea canaliculata* Lamarck. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol. 79:606-608.
- Pereira, L.B et sonnet, P., 2007.** La contamination diffuse des sols par les éléments traces métalliques en Région Wallonne. Dossier scientifique dans le cadre de l'élaboration du rapport analytique 2006-2007 sur l'état de l'environnement wallon, Université catholique de Louvain, faculté d'ingénierie agronomique, biologique et environnementale, unité des sciences des sols
- Piczak, K., Lesniewicz, A., Zyrnicki, W., 2003.** Metal concentrations in deciduous tree leaves from urban areas in Poland. *Environ. Monit. Assess*, Vol. 86: 273-287.
- Poljakoff-Mayber, A., 1988.** Ecological –physiological studies on the responses of higher plants to salinity and drought. *Arid Zone Res*, Vol. 6: 163- 183.
- Pilon-Smits., 2005.** Phytoremediation annual Review of Plant Biology, Vol. 56:15-39
- Pouget - M., 1980.** Les relations sol végétation dans les steppes algéroise, thèse doctorat, université six Marseille Chap. ORSTOM VOL (3-4), Paris: 555 p.
- Poschenrieder, C, J., Bech, M., Iugany, L., Pace, A., Fenes, E et Barcelo, J., 2001.** Copper in plant species in a copper gradient in Catalonia (North East Spain) and their potential for phytoremediation. *Plant and Soil*, Vol. 230: 247-256.
- Priso, R.J., Dibong, S.D., Tchinda, M.C., Taffouo, N., dongo, D., Amougou, A., 2010.** Impacts des eaux polluées sur la croissance, teneurs en chlorophylles et substances organiques dans les feuilles de deux Poaceae. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, Vol 4(4): 273-280.

Q

- Qadir, M., Quillerou, E., Nangia, V., Murtaza, G., Singh, M., Thomas R.J., Drechsel, P et Noble A.D., 2014.** Economics of salt-induced land degradation and restoration. *Nat Res Forum*.

R

- Raache, I., Karboussa-Haloua, R., 2004.** Caractérisation morphologique et anatomique de quelque espèce halophile dans la cuvette de Ouargla. *Mémoire Ingénieur*, Université de Ouargla, 67 P.
- Rahmoune, H., Thompson, P.W., Ward, J.M., Smith, C.D., Hong, G., Brown, J., 2005. Glucose transporters in human renal proximal tubular cells isolated from the urine of patients with non-insulin dependent diabetes. *Diabète*, Vol .54:3427–3434
- Rahmoune, C., Maalem, S., Kadri, K et Ben Naceur, M., 2008.** Etude de l'utilisation des eaux fortement salées pour l'irrigation des plantes du genre *Atriplex* en zones semi arides. *Revue des régions arides*, Vol. 2: 924-929.
- Raskin, I., Kumar, N. P. B. A., Dushenkov, S., and Salt, D. E., 1994.** Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr. Opin. Biotechnol*, Vol. 5:285-290.
- Ratnikov, A.N., Sviridenko, D.G., Zhigareva, T.L et Popova, G.I., 2005.** Effects of heavy metals and organic fertilizers on a biological activity of soddy-podzolic soil and yield of barley. *In* H.-K. Galazka, editor. *Current developments in remediation of contaminated lands*, Pulawy, Poland.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Redondo-Gómez, S., Mateos-Naranjo, E., Davy, A. D., Fernández-Muñoz, F., Castellanos, E. M., Luque, T. et Figueroa, M. E., 2007.** Growth and Photosynthetic Responses to Salinity of the Salt-marsh Shrub *Atriplex portulacoides*. Université de Sevilla, Espagne. *Annals of botany* : 12-15.
- Reguieg Yssaad, H.A ., 2007 :** Effet de la bentonite sur les sols sableux de la région de Mostaganem, étude de comportement d'une association blé pois chiche Thèse Doctorat. INA d'EL Harrach Alger. P 94-100
- Reimann, C., 1993:** Sodium exclusion by chenopodium species. *J. Exp. Bot.* 43:503-510.
- Remon, E., 2006.** Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. Université Jean Monnet, Saint Etienne.
- Rezazadeh, A., Ghasemnezhad, A., Barani, M et Telmadarrehei, T., 2012.** Effect of salinity on phenolic composition and antioxidant activity on Artichoke (*Cynarascolymus* L.) leaves. *Res. J. Med. Plant*, Vol.6: 245-252.
- Riyad, A.F., 1987.** Etude et sélection de jeunes plants d'Eucalyptus tolérants au sel dans des populations de divers niveaux de variabilité. Thèse de Doct. Univ., Nancy I : 246 P.
- Richards, L.A., 1954.** Diagnosis and improvement of saline and alkali soils, Vol. 60: p. 160.
- Rosas, M.R., 1989** - El genero *Atriplex* (Chénopodiaceae) en chile. *Gayana Bot*: 3-82.

S

- Saidi, D., Le Bissonnais, Y., Duval, O., Daoud, Y., Halitim, A., 2004.** Effet du sodium échangeable et de la concentration saline sur les propriétés physiques des sols de la plaine du Cheliff (Algérie). *Étude et Gestion des Sols*, Vol. 11: 81-92.
- Sairam, R. K et Tyagi, A., 2004** .Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, Vol. 86 (3), 10: 407-421.
- Salt, D. E., Blaylock, M. J., Kumar, N. P. B. A., Dushenkov, S., Ensley, B. D., Chet, I., and Raskin, I. ,1995.** Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology*, Vol. 13 : 468-474.
- Santosh, K.y., Asha, A.J.G., Phani, K., Prashant, R.T., Sanjeev KS, Tapan, C., 2009.** Bioaccumulation and phyto-translocation of arsenic, chromium and zinc by *Jatropha curcas* L.: Impact of dairy sludge and biofertilizer. *Bioresource Technology*, Vol. 100: 4616–4622.
- Sauvé, S., McBride, M. B., Norvell, W. A., Hendershot, W. H., 1997.** Copper solubility and Speciation of *in situ* contaminated soils: Effects of copper level, pH and organic matter. *Water Air Soil Poll*, vol. 100: 133-149
- Seol, Y et Javandel, I., 2008.** Citric acid-modified Fenton's reaction for the oxidation of chlorinated ethylenes in soil solution systems. *Chemosphere*, Vol. 72:537-542
- Servant, J. M., 1975:** Etude pédologique des sols halomorphes. Thèse. Doc. Uni. Montpellier, 194 p.
- Simmons, J.A., Currie, W.S., Eshleman, K.N., Kuers, K., Monteleone, S., Negley, T.L., Pohlrad, B.R et Thomas, C.L., 2008.** Forest to reclaimed mine land use change leads to altered ecosystem structure and function. *Ecological Applications*, Vol. 18:104-118.
- Singh., Sheila, K., Ian, Clarke, D., Mizuhiko, T., Victoria, E. B., Cynthia, H., Jeremy, S and Peter, B.D., 2003.** Identification of a Cancer Stem Cell in Human Brain Tumors .*Cancer Research*, Vol. 63: 5821–5828,
- Singh, A., Kumar, C.S., Agarwal, A., 2012.** Physiological study of combined heavy métal stress on *Hydrilla verticillata* (l.f.) Royle. *International journal of environmental sciences*, Vol.2:

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Shabnam, I et Seema, M., 2011.** Phytotoxicity of nickel and its accumulation in tissues of three *Vigna* species at their early growth stages, *Journal of Applied Botany and Food Quality*, Vol. 84, 223 - 228
- Shah, k et Nongkynrih, J.M., 2007.** metal hyperaccumulation and bioremedation *Bio Plant*, Vol. 4: 618-634
- Shakeel, S et Mansour, S., 2012.** Pretreatment Effect of Salicylic Acid on Protein and Hydrolytic Enzymes in Salt Stressed Mung Bean Seedlings *Asian Journal of Agricultural Sciences*, Vol. 4(2): 122-125, 2012
- Shakil. A., Abdul Wahid. E., Abdul Wahid., 2004.** Comparative morphological and physiological responses of green gram genotypes to salinity applied at different growth stages. *Bot.Bull.Acad.sin*, Vol. 46:135-142
- Sharma, S.S., Dietz, K.J., 2006.** The significance of amino acids and amino-derived molécules in plant responses and adaptation to heavy métal stress. *J. Exp. Bot*, Vol. 57: 711-726.
- Shen, L., Foster, J.G., Orcutt, D.M., 1989.** Composition and distribution of free amino acids in Flatpea (*Lathyrus sylvestris* L.) as influenced by water deficit and plant. *Journal of experimental botany*, Vol. 40, 71-79.
- Shennan, C., Hunt, R., Macrobbe, E. A .A., 1987:** Salt tolerance in *Aster tripolium* L. I. The effect of salinity on growth. *Plant Cell Environ*, Vol. 10: 59-65.
- Shipi et Narendra., 2005.** Cold salinity and drought stress. *Archive of biochemistry biophysics* Vol, 44, 2: 139-158
- Shu, W.S., Ye, Z.H., Zhang, Z.Q., Lan, C.Y et Wong, M.H., 2005.** Natural colonization of plants on five lead/zinc mine tailings in Southern China. *Restoration Ecology*, Vol. 13: 49-60.
- Simmons, J. A., Currie, W. S., Eshleman, K. N., Kuers, K., Monteleone, S., Negley, T. L., Pohlad, B. R., Thomas, C. L., 2008.** Forest to reclaimed mine land use change leads to altered ecosystem structure and function. *Ecol. Appl*, Vol. 18: 104-118.
- Smeets, K, A., Cuypers, A., Lambrechts, B., Semane, P., Hoet, A., Van Laere et Vangronsveld, J., 2005.** Induction of oxidative stress and antioxidative mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application. *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 43, 437-444.
- Smith, S.R., 1997.** Rhizobium in soils contaminated with copper and zinc following the long term application of sewage sludge and other organic wastes. *Soil Biology et Biochemistry*, Vol. 29: 1475-1489.
- Snoussi, S.A., Halitim, A., Valles, V., 2004.** Absorption hydrique en milieu salin chez la tomate et le haricot. *Agriculture*, Vol.13: 287.
- Soltner, D., 2000.** Les bases de la production végétale Tome I. Le sol et son amélioration. 22eme édition. Ed. Sciences et techniques agricoles : 407 P.
- Soualem, S., 2005.** Contribution à l'étude des comportements morpho physiologiques, anatomiques et biochimiques d'une halophyte, *Atriplex halimus* L. stressée à la salinité. Thèse de magister : 79 p.
- Souza, L.A., Andrade.S.I.A, Souza, S.C.R et Schiavinat, M.A., 2012.** Arbuscular mycorrhiza confers Pb tolérance in *Calopogonium mucunoides*. *Acta Physiologia Plantarum salinity*, Vol .34:521-523
- Sterckeman, T., Perriguet, J., Caël, M., Schwartz, C., Morel, J.L., 2004.** Applying a mechanistic model to cadmium uptake by *Zea mays* and *Thlaspi caerulescens*: consequences for the assessment of the soil quantity and capacity factors. *Plant and Soil*, Vol. 262: 289-302.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Strogonov, B.P., 1964.** Physiological basis of salt tolerance of plants as affected by various type of salinity. London: Old bourne Press: 163-204.
- Sun, B., Kan, S.H., Zhang, Y.Z., Den, S.H., Wu, J., Yuan, H., Qi, H., Yang, G., Li, L., Zhan, H.S., Xiao, H., Wang, Y.J., Peng, H. et Li, Y.W., 2010.** Certain antioxidant enzymes and lipid peroxidation of radish (*Raphanus sativus* L.) as early warning biomarkers of soil copper exposure. *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 183: 833-838
- Susan, A., Wang Maria Veneranda, C., Lee Norman O'Connor Christopher, J., Iverson Roy, G., Ohye Peter, M., Whiticar Judith, A., Hale David, L., Trees Joan, S., Knapp Paul, V., 2001.** Multidrug-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* with Decreased Susceptibility to Cefixime—Hawaii, *Clinical Infectious Diseases*, Vol.37: 849–852,
- Suthan, S., 2001.** Natural and enhanced remediation systems, Ed. Arcadis Geraghty et Miller science and engineering: 240-267.
- Szafrańska, K., Cvikrová, M., Kowalska, U., Górecka, K., Górecki, R., Martincová, O et Janas, K.M., 2011.** Influence of copper ions on growth, lipid peroxidation, proline and polyamines content in carrot rosettes obtained from another culture. *Acta Physio Plant*, Vol. 33: 851-859.
- ### T
- Tabaldi, L. A., Nicoloso, F. T., Castro, G.Y., Cargnelutti, D., GonçalvesI, J.F., Rauber. R., Skrebsky, E. C., Schetinger. M. R.C., Morsch, V.M., Bisognin, D. A., 2007.** Physiological and oxidative stress responses of four potato clones to aluminum in nutrient solution Braz. J. Plant Physiol. Vol.19:1677-9452
- Tak, H.I., Ahmad, F., Babalola, O.O., 2013.** Advances in the Application of Plant Growth promoting Rhizobacteria in Phytoremediation of Heavy Metals. D.M. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 223: 33-52.
- Teklić, T., Hancock, J.T., Engler, M., Paradiković, N., Cesar, V., Lepeduš, H., Štolfa, I et Bešlo, D., 2008.** Antioxidative responses in radish (*Raphanus sativus* L.) Plants stressed by copper and lead in nutrient solution and soil. *Act Bio Cracoviensia Ser Bot*, Vol. 50: 79-86.
- Teng, Y., Luo, Y.M., Huang, C.H., Long, J., Li, Z.G et Christie, P., 2008.** Tolerance of grasses to heavy metals and microbial functional diversity in soils contaminated with copper mine tailings. *Pedosphere*, Vol .18 : 363-370.
- Thiery, L., Leprince, A.S., Lefebvre, D., Ghars, M.A., Debarbieux, E., Savouré, A., 2004.** Phospholipase D Is a Negative Regulator of Proline Biosynthesis in *Arctidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem*, Vol. 279(15) : 14812-14818.
- Thi My, D. H., 2009.** Impacts des métaux lourds Sur l'interaction plante/ver de terre/microflore tellurique. Thèse de doctorat spécialité écologie microbienne : 145 p
- Thomas, J.C., Malick, F.K., Endreszl, C., Davies, E.C., Murray, K.S., 1998.** Distinct responses to copper stress in the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum*. *Physiol Plant*, vol.102: 360 – 368
- Thomson, W.W., 1975.** The structure and function of salt glands. In: *Plants in Saline Environments*. Ecological Studies 15. Poljakoff-Mayber, A. and J. Gale (eds.):118-46. Springer-Verlag, Berlin.
- Tiller, K.G and Merry, R.H., 1981.** Copper pollution of agricultural soils. In: *Copper in soils and plants* dS Loneragan JF, Robson AD and Graham RD, Academic Press: 25
- Tounekti, T., Ahmedou M.V., Oñate, M., Khemira, H., Munné-Bosch, S., 2011.** Salt-induced oxidative stress in rosemary plants: Damage or protection? *Environmental and Experimental Botany*, Vol .71: 298-305

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Tremblin, G., Ferard, G., 1994.** Croissance et accumulation de sels chez *Halopeplis amplexicaulis* (Vahl.) Ung. Cultivé à différentes salinités. *Acta Oecologica*, Vol.15: 355-364
- Tremel-Schaub, A et Feix, I., 2005.** Contamination des sols Transferts des sols vers les plantes. EDP Sciences/ADEME: 407 p.
- Troll, W., Lindsley, J. A., 1955.** Photometric method for the determination of proline. *J Biol Chem*, Vol.215 (2):655–660.
- Tsimogiannins, D et Orepolou V., 2006.** The contribution of flavonoids curing on DPPH free radical scavenging efficiency, acinetic approach for 3', 4'-hydroxy substituted, membres innovate. *Food science technique*, Vol.7: 140-146.

U

- UNGAR, I. A., 1991: Growth Regulators.** In: *Ecophysiology of Vascular Halophytes*. Ungar, LA. (Ed.). CRC Press Inc. Boca Raton, Florida: 87- 93.
- U.N.E.P., 2002.** United Nations Environment Program. *Phytoremediation: An Environmentally sound technology for pollution prevention, control and remediation.* In UNEP. *UNEP*.
- USSL., 1954.** Salinity Laboratory (Diagnosis and Improvement of Saline and Alkaline Soils. US Department of Agriculture Hand book, No. 60: 160 p.

V

- Van Aken., 2009.** Transgenic plants for enhanced phytoremediation of toxic explosives. *Curr Opin Biotechnology*, Vol. 20 (2):231-6.
- Vercauteren, T., Pennec, X., Malis, E., Perchant, A., Ayache, N., 2007 a.** Insight into efficient image registration techniques and the demons algorithm. In: Karssemeijer, N., Lelieveldt, B. P. F. (Eds.), *Proc. IPMI '07*. Vol. 4584 of LNCS. Springer-Verlag, Kerkrade, the Netherlands, pp. 495–5 06.
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A., 2000.** Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain- Treated Bean Plants: Protective Role of Exogenous Polyamines. *Plant Science*, Vol.151:59-66.
- Verma, S et Dubey, R.S., 2001.** Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Bio Plant*, Vol.44 (1): 117-123.
- Verma, S et Dubey, R.S., 2003.** Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Sci*, Vol.164: 645-655.
- Vickerman, D.B., Shannon, M.C., Bañuelos, G.S., Grieve, C.M. and Trumble, J.T., 2002.** Evaluation of *Atriplex* lines for selenium accumulation, salt tolerance and suitability for a key agricultural insect pest. *Environmental Pollution*, Vol. 120:463-473.
- Vidic, T. N., Jogan, D., Drobne et Vihlar, B., 2006.** Natural revegetation in the vicinity of the former lead smelter in Zerjav, Slovenia. *Environmental Science et Technology*, vol. 40: 4119-4125.
- Vishnoi et Srivastava., 2008.** *Mycobacterium tuberculosis Genome Divergence Database* BMC Genomics, Vol. 9:373
- Vinit-Dunand, F. D., Epron, B., Alaoui-Sosse et Badot, P.M., 2002.** Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. *Plant Science*, Vol. 163, 53-58.
- Voorhees, M.E., Uresk, D.W et Trlica, M.J., 1991.** Substrate relations for rill scale (*Atriplex suckleyi*) on bentonite mine spoil. *Jour of Range Manag*, Vol. 44: 34-38.

W

- Walker, D. J., Lutts, S., Sánchez- García, M et Correa, E.I., 2014.** “*Atriplex halimus* L.: Its biology and uses”, *Journal of Arid Environments*, Vol. 100- 101: 111- 121.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Wang, Y.B, Liu, D.Y .L., Zhang, Y., Li et Chu, L., 2004.** Patterns of vegetation succession in the process of ecological restoration on the deserted land of Shizishan copper tailings in Tongling city. *Acta Botanica Sinica*, Vol. 46:780-787.
- Wang, Y.P., Li, Q.B., Shi, J.Y., Lin, Q., Chen, X.C., Wu, W et Chen, Y.X., 2008.** Assessment of microbial activity and bacterial community composition in the rhizosphere of a copper accumulator and non-accumulator. *Soil Biology et Biochemistry*, Vol. 40, 1167-1177.
- Wasternack, C., 2007.** Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annals of Botany*, Vol. 100, 681-697.
- Waring, R.H. et Pitman, G.B., 1985.** Modifying lodgepole pine stands to change susceptibility to mountain pine beetle attack. *Ecology*, 66: 889-897.
- Weaver, L. M et Herrmann, K. M., 1997.** Dynamics of the shikimate pathway in plants. *Trends Plant Sci*, Vol. 2, n. 9: 346-351,
- Wenzel, W.W., 2009.** Rhizosphere processes and management in plant - assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. *Plant and Soil*: 385- 408.
- Whiteley, G.M and Williams, S., 1993.** Effects of treatment of metalliferous mine spoil with lignite derived humic substances on the growth-responses of metal tolerant and Non metal tolerant cultivars of *Agrostis capillaris* L. *Soil Technology*, Vol. 6: 163-171.
- Wong, M. H., 2003.** Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*, Vol. 50:775-780.
- Wong, C.C., Li, H.B., Cheng, K.W., Chen, F., 2006.** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem*, Vol. 97: 705-711.
- Wu, L et Lin, S.L., 1990.** Copper tolerance and copper uptake of *Lotus purshianus* (Benth.) Clem. et Clem. and its symbiotic *Rhizobium loti* derived from a copper mine waste population. *New Phytologist*, Vol. 116:531-539

Y

- Yakov et Epstein., 1981.** Crowding Stress and Human Behavior Winter: 126-144
- Yonghao, Y.u., Sang-Oh, Y., George, P., Qian, Y., Xiaoju, M. M., .Judith, V., .Neil, K., Gregory, R., Hoffman., Lewis, C., Cattle., Steven, P., Gygi and John, B., 2011.** Quantitative Phosphoproteomic Analysis Identifies the Adaptor Protein Grb10 as an mTORC1 Substrate that Negatively Regulates Insulin Signaling, vol. 10: 1322–1326.

Z

- Zaier, H., Ghnaya, T, Ben Rejeb, K ., Lakhdar, A ., Rejeb, S., Jemal, S.,2010.** Effects of EDTA on phytoextraction of heavy metals (Zn, Mn and Pb) from sludge-amended soil with *Brassica napus*, *Bioresource Technology*, vol. 101:3978–3983.
- Zhu, Y. L., Zayed, A.M., Quian, J.H., De Souza, M., Terry, N., 1999 a.** Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: II. Water hyacinth. *Journal of Environmental Quality*, vol. 28: 339–344.
- Zid, E. and Grignon, C., 1985.** Sodium-calcium interactions in leaves of *Citrus aurantium* grown in the presence of NaCl, *Physiol. Vég*, Vol. 23 : 895-903.

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXES 01 .Traitement statistiques des résultats des paramètres biométriques «la longueur des tiges d'*Atriplex canescens*, mises en culture

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1298,822	35	37,109				
VAR.FACTEUR 1	16,625	2	8,313	0,238	0,79269		
VAR.FACTEUR 2	338,824	3	112,941	3,232	0,03967		
VAR.INTER F1*2	104,582	6	17,43	0,499	0,80409		
VAR.RESIDUELLE 1	838,79	24	34,95			5,912	10,49%

ANNEXES 02 .Traitement statistiques des résultats des paramètres biométriques «la surface foliaire d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	8,872	35	0,253				
VAR.FACTEUR 1	0,803	2	0,401	1,968	0,15986		
VAR.FACTEUR 2	0,514	3	0,171	0,839	0,48793		
VAR.INTER F1*2	2,66	6	0,443	2,173	0,08118		
VAR.RESIDUELLE 1	4,896	24	0,204			0,452	20,78%

ANNEXES 03 .Traitement statistiques des résultats des paramètres biométriques «volume racinaire d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	8,872	35	0,253				
VAR.FACTEUR 1	0,803	2	0,401	1,968	0,15986		
VAR.FACTEUR 2	0,514	3	0,171	0,839	0,48793		
VAR.INTER F1*2	2,66	6	0,443	2,173	0,08118		
VAR.RESIDUELLE 1	4,896	24	0,204			0,452	20,78%

ANNEXES 04 .Traitement statistiques des résultats des paramètres hydriques «TE d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1251,683	35	35,762				
VAR.FACTEUR 1	326,709	2	163,355	8,151	0,00208		
VAR.FACTEUR 2	241,671	3	80,557	4,02	0,01877		
VAR.INTER F1*2	202,312	6	33,719	1,682	0,16804		
VAR.RESIDUELLE 1	480,99	24	20,041			4,477	6,13%

ANNEXES

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
3.0		77,223	A	
2.0		71,393		B
1.0	F1n1	70,391		B

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
3.0		77,39	A	
4.0		72,287		B
1.0	F2n1	71,584		B
2.0		70,749		B

ANNEXES 05 .Traitement statistiques des résultats des paramètres hydriques «RWC d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1999,529	35	57,129				
VAR.FACTEUR 1	426,542	2	213,271	4,918	0,01604		
VAR.FACTEUR 2	114,075	3	38,025	0,877	0,46901		
VAR.INTER F1*2	418,107	6	69,684	1,607	0,18797		
VAR.RESIDUELLE 1	1040,806	24	43,367			6,585	8,04%

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	F1n1	84,482	A	
3.0		84,203	A	
2.0		77,045		B

ANNEXES 06 .Traitement statistiques des résultats des paramètres hydriques «RWL Après 30' d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0	35	0				
VAR.FACTEUR 1	0	2	0	2,22	0,12861		
VAR.FACTEUR 2	0	3	0	2,02	0,13667		
VAR.INTER F1*2	0	6	0	2,06	0,09599		
VAR.RESIDUELLE 1	0	24	0			0,002	43,58%

ANNEXES

ANNEXES 07 .Traitement statistiques des résultats des paramètres hydriques «RWL Après 60' d'*Atriplex canescens*, mises en culture

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0	35	0				
VAR.FACTEUR 1	0	2	0	0,683	0,51905		
VAR.FACTEUR 2	0	3	0	2,7	0,06741		
VAR.INTER F1*2	0	6	0	0,921	0,49818		
VAR.RESIDUELLE 1	0	24	0			0,002	44,93%

ANNEXES 08 .Traitement statistiques des résultats des paramètres hydriques «RWL Après 120' d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0	35	0				
VAR.FACTEUR 1	0	2	0	1,234	0,30926		
VAR.FACTEUR 2	0	3	0	1,068	0,38213		
VAR.INTER F1*2	0	6	0	0,765	0,60621		
VAR.RESIDUELLE 1	0	24	0			0,002	81,60%

ANNEXES 09 .Traitement statistiques des résultats des paramètres biochimiques «Teneur de chlorophylle a d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V
Var. Totale	0,073	35	0,005			0,005	0,093
Var. Facteur1	0.0524	2	0.0012		0.022		
VAR.FACTEUR 2	0.0542	3	0.0015	0,093	0.04		
VAR.INTER F1*2	0.0123	6	0.0048		0.001		
VAR.RESIDUELLE 1	0.1254	24	0.012				

ANNEXES 10 .Traitement statistiques des résultats des paramètres biochimiques «Teneur de chlorophylle b d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

Corrélation du dosage et chlorophylle b

Récapitulatif des modèles^b

Modèle	r	R-deux	R-deux ajusté	Erreur standard de l'estimation	Changement dans les statistiques				
					Variation de R-deux	Variation de F	ddl1	ddl2	Sig. Variation de F
1	,972 ^a	,944	,943	,47633	,944	774,119	1	46	,000

a. Valeurs prédites : (constantes), DOSAGE

b. Variable dépendante : CHLOB

ANNEXES

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 (Constante)	9,126	,129		70,566	,000
DOSAGE	-,554	,020	-,972	-27,823	,000

ANNEXES 11 .Traitement statistiques des résultats des paramètres biochimiques «Teneur de chlorophylle a+b d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

Test échantillons appariés

		Différences appariées		t	ddl	Sig. (bilatérale)
		Moyenne	Ecart-type			
Paire 1	témoin - NaCl0,5%	2,18250	1,37585	3,173	3	,050
Paire 2	témoin - NaCl3%	3,50725	,18082	38,792	3	,000
Paire 3	témoin - cuivre 2000ppm	3,44375	,22416	30,726	3	,000
Paire 4	témoin - cuivre 2500ppm	5,08775	,59330	17,151	3	,000
Paire 5	témoin - cuivre 3000ppm	7,49750	,40803	36,749	3	,000
Paire 6	témoin - NaCl0,5%+ cuivre 2000ppm	7,04375	,25257	55,778	3	,000
Paire 7	témoin - NaCl0,5%+ cuivre 2500ppm	7,72250	,56506	27,333	3	,000
Paire 8	témoin - NaCl0,5%+ cuivre 3000ppm	10,78000	,18385	117,271	3	,000
Paire 9	témoin - NaCl3%+ cuivre 2000ppm	11,09750	,24690	89,896	3	,000
Paire 10	témoin - NaCl3%+ cuivre 2500ppm	12,45750	,36981	67,373	3	,000
Paire 11	témoin - NaCl3%+ cuivre 3000ppm	14,68500	,18065	162,582	3	,000

Modèle	r	R-deux	R-deux ajusté	Erreur standard de l'estimation	Changement dans les statistiques				
					Variation de R-deux	Variation de F	ddl1	ddl2	Sig. Variati on de F
1	,981 ^a	,962	,961	,86414	,962	1155,555	1	46	,000

a. Valeurs prédites : (constantes), DOSAGE

b. Variable dépendante : CHLOAB

Coefficients^a

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 (Constante)	20,480	,235		87,289	,000
DOSAGE	-1,228	,036	-,981	-33,993	,000

a. Variable dépendante : CHLOAB

ANNEXES

		Différences appariées		t	ddl	Sig. (bilatérale)
		Moyenne	Ecart-type			
Paire 1	témoin - NaCl0,5%	-,21800	,11996	-3,634	3	,036
Paire 2	témoin - NaCl3%	-,44425	,12922	-6,876	3	,006
Paire 3	témoin - cuivre 2000ppm	-,46800	,09811	-9,541	3	,002
Paire 4	témoin - cuivre 2500ppm	-,56950	,09686	-11,759	3	,001
Paire 5	témoin - cuivre 3000ppm	-,63625	,08210	-15,499	3	,001
Paire 6	témoin - NaCl0,5%+ cuivre 2000ppm	-,69900	,10568	-13,229	3	,001
Paire 7	témoin - NaCl0,5%+ cuivre 2500ppm	-,72550	,02949	-49,203	3	,000
Paire 8	témoin - NaCl0,5%+ cuivre 3000ppm	-,75725	,10376	-14,596	3	,001
Paire 9	témoin - NaCl3%+ cuivre 2000ppm	-1,03600	,13650	-15,180	3	,001
Paire 10	témoin - NaCl3%+ cuivre 2500ppm	-1,14600	,14088	-16,270	3	,001
Paire 11	témoin - NaCl3%+ cuivre 3000ppm	-1,55525	,08468	-36,732	3	,000

ANNEXES 12 .Traitement statistiques des résultats des paramètres biochimiques «Teneur de proline d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

Corrélation du dosage et de la proline

Récapitulatif des modèles^b

Modèle	r	R-deux	R-deux ajusté	Erreur standard de l'estimation	Changement dans les statistiques				
					Variation de R-deux	Variation de F	ddl1	ddl2	Sig. Variation de F
1	,941 ^a	,886	,884	,13964	,886	357,630	1	46	,000

a. Valeurs prédites : (constantes), DOSAGE

b. Variable dépendante : PROLINE

Coefficients^a

Modèle		Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
		A	Erreur standard			
1	(Constante)	1,118	,038		29,491	,000
	DOSAGE	,110	,006	,941	18,911	,000

ANNEXES

ANNEXES 13 .Traitement statistiques des résultats des paramètres biochimiques «Teneur de sucre soluble d'*Atriplex canescens*, mises en culture

Test échantillons appariés

		Différences appariées		t	ddl	Sig. (bilatérale)
		Moyenne	Ecart-type			
Paire 1	témoin - NaCl0,5%	-,12750	,05654	-4,510	3	,020
Paire 2	témoin - NaCl3%	-,06000	,02588	-4,636	3	,019
Paire 3	témoin - cuivre 2000ppm	-,06950	,02205	-6,303	3	,008
Paire 4	témoin - cuivre 2500ppm	-,12175	,02874	-8,471	3	,003
Paire 5	témoin - cuivre 3000ppm	-,18750	,06222	-6,027	3	,009
Paire 6	témoin - NaCl0,5%+ cuivre 2000ppm	-,03775	,02164	-3,489	3	,040
Paire 7	témoin - NaCl0,5%+ cuivre 2500ppm	-,11575	,01310	-17,673	3	,000
Paire 8	témoin - NaCl0,5%+ cuivre So4 3000ppm	-,16000	,05286	-6,054	3	,009
Paire 9	témoin - NaCl3%+ cuivre 2000ppm	-,13175	,01936	-13,609	3	,001
Paire 10	témoin - NaCl3%+ cuivre 2500ppm	-,38950	,03672	-21,215	3	,000
Paire 11	témoin - NaCl3%+ cuivre 3000ppm	-,57975	,26227	-4,421	3	,021

Corrélation du dosage et des sucres solubles

Récapitulatif des modèles^b

Modèle	R	R-deux	R-deux ajusté	Erreur standard de l'estimation	Changement dans les statistiques				
					Variation de R-deux	Variation de F	ddl1	ddl2	Sig. Variation de F
1	,662 ^a	,438	,426	,13302	,438	35,834	1	46	,000

a. Valeurs prédites : (constantes), DOSAGE

b. Variable dépendante : SUCRE

Coefficients^a

Modèle		Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
		A	Erreur standard			
1	(Constante)	,055	,036		1,521	,135
	DOSAGE	,033	,006	,662	5,986	,000

a. Variable dépendante : SUCRE

ANNEXES

ANNEXES 14 .Traitement statistiques des résultats des paramètres biochimiques «Teneur de protéine d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

	SS	DF	MS	F	PROB	Sdt	C.V.
VAR.TOTAL	4,343	8	0,543				
VAR.FACTOR 1	1,722	2	0,861	1,972	0,21939		
RESIDUAL 1	2,621	6	0,437			0,661	4,50%

ANNEXES 15 .Traitement statistiques des résultats des antioxydants «Teneur de polyphenols d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

Effet de 0.5% de NaCl combiné avec 2000, 2500,3000 ppm du cuivre

Analyse de Variance

	SS	DF	MS	F	PROB	Sdt	C.V.
VAR.TOTAL	40133,89	11	3648,535				
VAR.FACTOR 1	39946,9	3	13315,63	569,677	0		
RESIDUAL 1	186,992	8	23,374			4,835	4,37%

F1	HEADINGS	MEANS	Homogeneous Groups		
4.0	F1n4	178,9	A		
3.0	F1n3	172,767	A		
2.0	F1n2	159,8		B	
1.0	F1n1	31,633			C

ANNEXES

ANNEXES 16 .Traitement statistiques des résultats des antioxydants «Teneur flavonoïdes d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

	SS	DF	MS	F	PROB	Sdt	C.V.
VAR.TOTAL	0,005	11	0				
VAR.FACTEUR 1	0,004	3	0,001	14,537	0,00156		
RESIDUAL 1	0,001	8	0			0,01	6,97%

ANNEXES 17 .Traitement statistiques des résultats des minéraux «Teneur sodium des feuilles d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2054799	47	43719,13				
VAR.FACTEUR 1	579172,4	2	289586,2	37,806	0		
VAR.FACTEUR 2	703609,9	3	234536,6	30,619	0		
VAR.INTER F1*2	496264,3	6	82710,71	10,798	0		
VAR.RESIDUELLE 1	275752,8	36	7659,799			87,52	20,68%

F1 F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES				
3.0 2.0		817,95	A				
3.0 3.0		696,25	A				
2.0 1.0	F2n1	541,75		B			
1.0 2.0	F1n1	497		B	C		
2.0 3.0		495		B	C		
2.0 2.0		417		B	C	D	
3.0 4.0		363		B	C	D	
3.0 1.0	F2n1	357,8		B	C	D	
1.0 3.0	F1n1	314			C	D	
1.0 4.0	F1n1	239,85				D	E
2.0 4.0		231,175				D	E
1.0 1.0	F1n1 F2n1	107,975					E

ANNEXES

ANNEXES 18 .Traitement statistiques des résultats des minéraux «Teneur sodium des racines d'*Atriplex canescens*, mises en culture»

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	64352010	47	1369192				
VAR.FACTEUR 1	49850080	2	24925040	448,314	0		
VAR.FACTEUR 2	7082052	3	2360684	42,46	0		
VAR.INTER F1*2	5418372	6	903062	16,243	0		
VAR.RESIDUELLE 1	2001504	36	55597,33			235,791	8,69%

F1 F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
3.0 1.0	F2n1	4133,25	A			
2.0 2.0		3944,5	A			
3.0 2.0		3576,75		B		
2.0 3.0		3395,5		B		
3.0 4.0		3293,75		B		
2.0 1.0	F2n1	3270,75		B		
2.0 4.0		3211,25		B		
3.0 3.0		2639,5			C	
1.0 2.0	F1n1	2367,5			C	
1.0 1.0	F1n1 F2n1	1030,25				D
1.0 3.0	F1n1	901,25				D
1.0 4.0	F1n1	787,75				D

ANNEXES 19 .Traitement statistiques des résultats des minéraux «Teneur cuivre des feuilles d'*Atriplex canescens*, mises en culture

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1054799	47	43719,13				
VAR.FACTEUR 1	579172,4	2	289586,2	37,806	0.051		
VAR.FACTEUR 2	703609,9	3	234536,6	30,619	0.036		
VAR.INTER F1*2	496264,3	6	82710,71	10,798	0.0258		
VAR.RESIDUELLE 1	275752,8	36	7659,799			87,52	20,68%

ANNEXES 20. Protocole expérimentale (mode d'opérateur)

Dosage de cuivre : Le cuivre est utilisé sous la forme de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ qui est mise en solution dans de l'eau distillée. Afin d'obtenir une concentration de 2000 ppm, 2500 ppm, 3000 ppm et 3500 ppm nous avons procédé aux calculs ci-dessous : $Poids = C \text{ (mg/l ou ppm)} \cdot v(l) \cdot M \text{ CuSO}_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O} \text{ (g/mol)} / M_{\text{Cu}} \text{ (g/mol)}$.

Cuivre ppm	2000	2500	3000
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O(g)}$	5.02	6.27	7.53

ANNEXES

Dosage de NaCl :

NaCl (%)	0.5	3
g/l	5	30

I- Paramètres biométriques

I-1 - La longueur des tiges :

Durant la durée du stress, les longueurs des tiges sont mesurées chaque semaine et les valeurs données sont les moyennes obtenues des quatre répétitions par traitement.

I-2 - la surface foliaire :

la surface foliaire (Sf) est estimée selon la méthode de (Paul et al., 1979), elle consiste à placer une feuille de papier calque, découper ses contours, puis peser la partie du calque qui représente la feuille (Pf), enfin déterminer par des pesées le poids correspondant à une surface (Sq) connue d'un carré de même papier calque et à déduire la surface de la feuille (Sf) par la formule suivante : $Sf (cm^2) = \frac{(Pf-Sq)}{Pq}$

I-3 - le volume racinaire :

Il est mesuré par immersion du système racinaire dans une éprouvette graduée (en ml) remplie d'eau, selon le principe de la poussée d'Archimède, soit : Le volume d'un corps immergé est égal au volume du liquide déplacé (dénivellation).

II Paramètres Hydriques

1- la teneur en eau (TE) :

La teneur en eau de toute la plante est la différence entre le poids frais et le poids sec (dessèchement à 80 °C pendant 48h). Cette différence est exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche selon la formule suivante :

$$TE = ((PF-PS) / PF) \times 100$$

Avec : TE : teneur en eau des plants (en %)

PF : poids frais juste après prélèvement (en g)

PS: poids sec après 48 heures de séchage à l'étuve (en g)

2- La teneur relative en eau (RWC) :

Elle est déterminée selon la méthode de (BARRS et WEATHERLEY., 1968 ; SCIPPA). Le limbe foliaire coupé à sa base, est immédiatement pesé pour déterminer le poids frais (PF). Les feuilles sont ensuite placées dans un tube à essai contenant de l'eau distillée, puis maintenu à l'obscurité à 4°C pendant 12 heures. Ces feuilles sont récupérées et essuyées délicatement avec un papier buvard et pesées à nouveau pour déterminer le poids en pleine turgescence (Ppt). Le poids sec (PS) est déterminé après passage des feuilles dans une étuve pendant 48 heures à 80°C.

La teneur relative en eau est calculée par la formule suivante proposée par (Barrs et Weatherley., 1962) adoptée plus tard par (Scippa et al., 2004).

$$RWC (\%) = \frac{Pf-PS}{Ppt-PS} \times 100$$

ANNEXES

3- La perte d'eau par transpiration (RWL) :

Elle est évaluée selon la méthode de (**Clarke et Mclaig., 1982**). La feuille est coupée à la base du limbe, la partie sélectionnée est trempée immédiatement dans un tube à essai rempli d'eau distillée et placé à l'obscurité à une température de 4°C pendant 12 heures. A la pleine turgescence, les feuilles sont essuyées et pesées, ce qui constitue le poids initial (Pi). Elles sont ensuite placées sur une pailleuse au laboratoire, à température ambiante. Des pesées sont effectuées à trois temps différents : après 30 min (RWL 30), 60 min (RWL 60) et 120 min (RWL 120).

La perte d'eau par transpiration est déterminée par l'équation selon (**CLARKE et MCKAIG .,1982**) puis (**ARAUS et al .,1991**)

$$RWL_x(\text{mg d'eau perdu.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}) = (P_i - p_{t_x}) \cdot \frac{1}{\text{surface.temps}}$$

III Les paramètres biochimiques :

1- Dosage de la chlorophylle

L'extraction de la chlorophylle **a** et **b** est réalisé selon la méthode de **Lichtenthaler (1987) et Shabala et al. (1998)** et au niveau de l'avant dernière feuille.

Dans des tubes à essai, on ajoute à 100 mg d'échantillon frais, coupé en petits fragments, 10 ml d'acétone à 95%, l'ensemble est conservé à l'obscurité et à 4°C pendant 48 heures. Les concentrations de la chlorophylle « a », de la chlorophylle « b » sont effectués à l'aide d'un spectrophotomètre à UV à des densités optiques respectives de 662 nm et 664 nm.

L'appareil est étalonné avec la solution témoin à base d'acétone à 95%. Les teneurs de la chlorophylle **a**, de la chlorophylle **b** et les chlorophylles totales sont calculées par les formules suivantes :

$$\text{Chl a} = 9,784 \times Do (662) - 0,99 \times Do (664)$$

$$\text{Chl b} = 21,42 \times Do (664) - 4,65 \times Do (662)$$

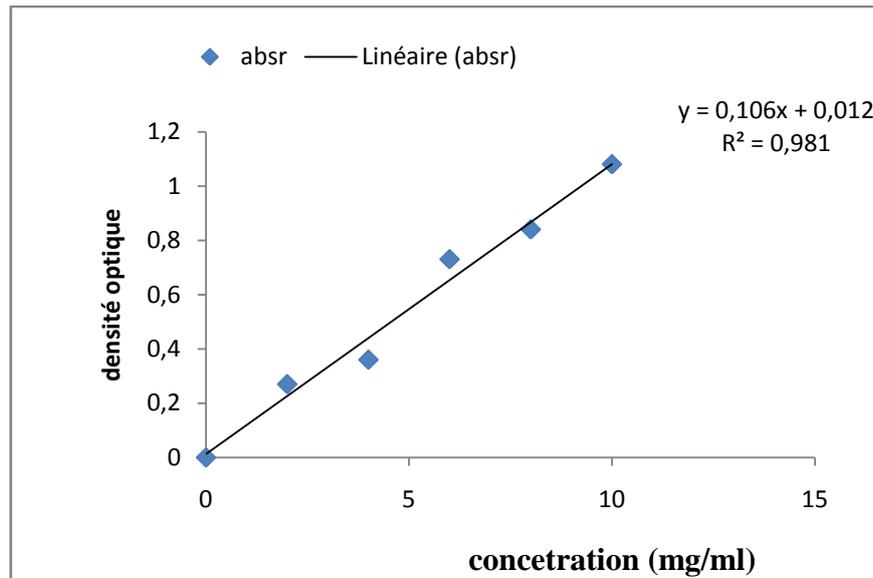
$$\text{Chlorophylle totale} = \text{Chl a} + \text{Chl b}.$$

2-dosage des Protéines :

La technique utilisée pour le dosage des protéines totales est celle de **Bradford (1976)** qui utilise le BSA (Le sérum d'albumine de bovin) comme standard. On prend 100mg d'échantillon, puis on procède à leur broyage à l'aide d'un mortier et un peu d'eau distillée après on récupère dans des tubes à essai un peu d'eau de chaque prélèvement broyé (0.1mg) auquel on ajoute 05 gouttes d'eau distillée .Puis dans des tubes à essai on prélève 0.2 ml de la solution précédente et 1.6 ml d'eau distillée .cinq minutes avant la lecture on ajoute 0.2 ml du réactif de Bradford. Le dosage se fait au spectrophotomètre à la longueur d'onde 595 nm après l'étalonnage de l'appareil par une solution témoin contenant 108 d'eau distillée avec 0.2 mm de réactif de Bradford .La quantité des protéines a été déterminée ca partir de la formule :

$$Y=0.106 X+0.012 \quad Y : \text{densité optique} \quad X : \text{quantité de protéine en (mg/l)}$$

ANNEXES

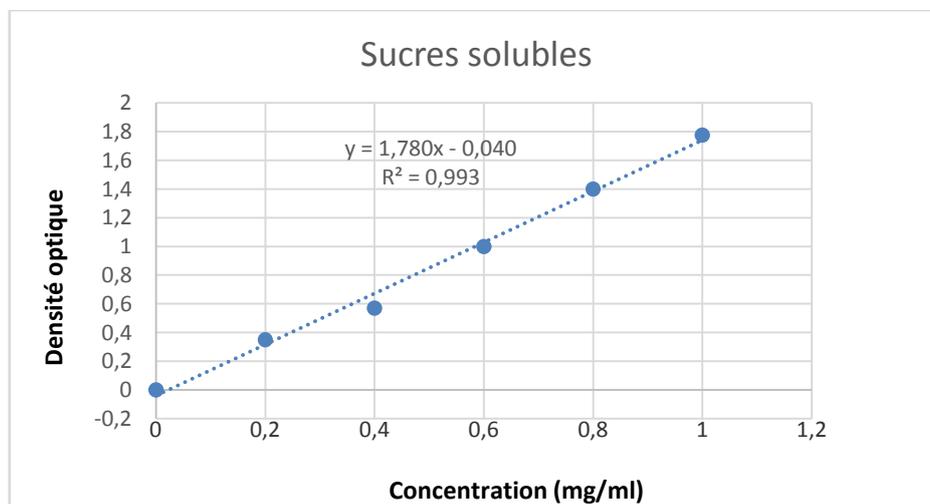


Courbe d'étalonnage des protéines

3 - Dosage des sucres solubles

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode au phénol de **Dubois et Al.** (1956). Elle consiste à prendre 100 mg de matière sèche placées dans des tubes à essais, on ajoute 3 ml d'éthanol à 80% pour faire l'extraction des sucres. On laisse à température ambiante pendant 48h à l'obscurité. Au moment du dosage les tubes sont placés dans l'étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool. Dans chaque tube on ajoute 20ml d'eau distillée à l'extrait. C'est la solution à analyser. Dans des tubes à essais propres, on met 2ml de la solution à analyser, on ajoute 1ml de phénol à 5% (le phénol est dilué dans de l'eau distillée); on ajoute rapidement 5ml d'acide sulfurique concentré 96% tout en évitant de verser de l'acide contre les parois du tube. On obtient, une solution jaune orange à la surface, on passe au vortex pour homogénéiser la couleur de la solution. On laisse les tubes pendant 10mn et on les place au bain-marie pour 10 à 20mn à une température de 30°C (La couleur de la réaction est stable pendant plusieurs heures.). Les mesures d'absorbances sont effectuées à une longueur d'ondes de 485 nm .

La courbe d'étalonnage est réalisée selon l'équation suivante: $Y = 1.780x - 0.040$.



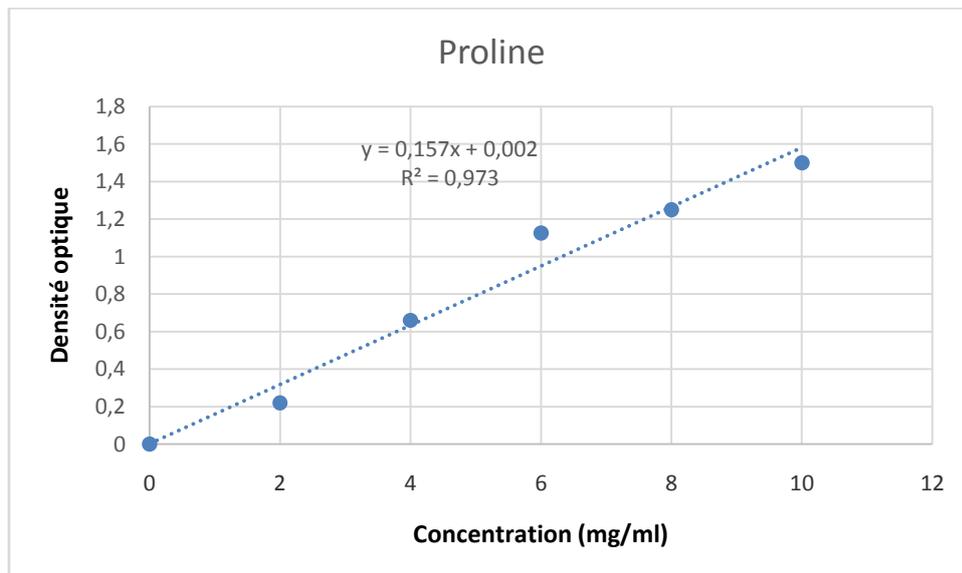
ANNEXES

4 - Dosage de la proline

La proline ou acide pyrrolidine 2-carboxylique est l'un des vingt principaux acides aminés qui entrent dans la constitution des protéines. La proline est facilement oxydée par la ninhydrine ou tricetohydrindène. C'est sur cette réaction que se base le protocole de mise en évidence de la proline dans les échantillons foliaires (**El Jaafari, 1993**). La méthode suivie est celle de **Trolls et Lindsley, (1955)**, simplifiée et mise au point par **Rasio et al., (1987)**. Elle consiste à prendre 100 mg de matière fraîche dans des tubes à essai contenant 2 ml de méthanol à 40%. Le tout est chauffé à 85°C dans un bain-marie pendant 60mn. (Les tubes sont recouverts de papier aluminium pendant le chauffage pour éviter la volatilisation de l'alcool.) Après refroidissement ; on prélève 1ml d'extrait auquel il faut ajouter :-1 ml d'acide acétique (CH₃COOH) ; -25 mg de ninhydrine (C₆H₆O₄) ;-1 ml de mélange contenant : -120 ml d'eau distillée ;-300 ml d'acide acétique ;-80 ml d'acide ortho phosphorique (H₃PO₄.d=1.7).

La solution obtenue est portée à ébullition pendant 30 mn à 100°C, la solution vire au rouge, après refroidissement, 5 ml de toluène sont rajoutés à la solution qui est agitée, deux phases se séparent (une phase supérieure à la couleur rouge contient la proline et une phase inférieure transparente sans proline). Après avoir éliminé la phase inférieure, la phase supérieure est récupérée est déshydratée par l'ajout d'une spatule de Sulfate de Sodium Na₂ SO₄ anhydre (pour éliminer l'eau qu'elle contient). On détermine la densité optique (Do) à l'aide d'un spectrophotomètre sur une longueur d'onde de 528nm. Les valeurs obtenues sont converties en taux de proline par le biais d'une « courbe étalon », préalablement établie à partir d'une série de solution de concentration en proline connue. Cette courbe est utilisée pour déterminer les teneurs en proline dans les feuilles des plantes.

$$y = 0.157x + 0.002$$



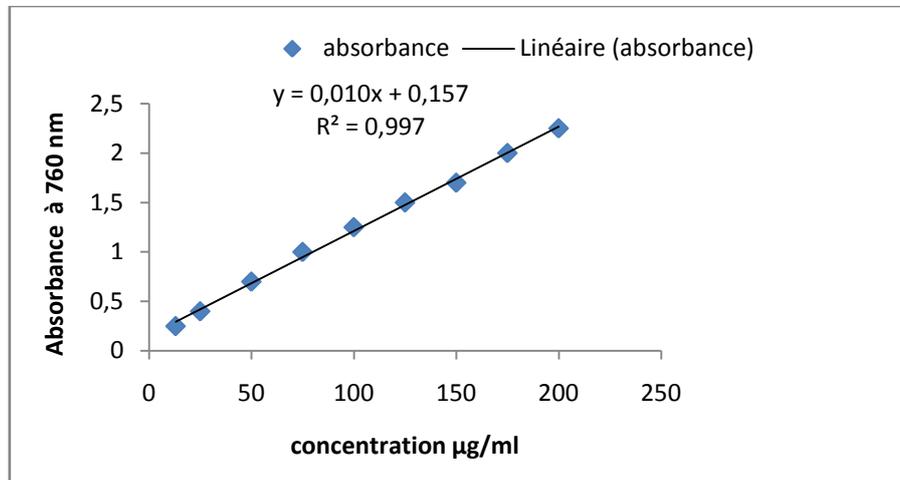
VI - Dosages des antioxydants

1 - polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux est effectué avec le réactif colorimétrique Folin- Cio calteu selon la méthode citée par (**Wong et al., 2006**). 1 ml de réactif de Folin (10 fois dilué) est ajouté à 200 µl d'échantillon ou standard

ANNEXES

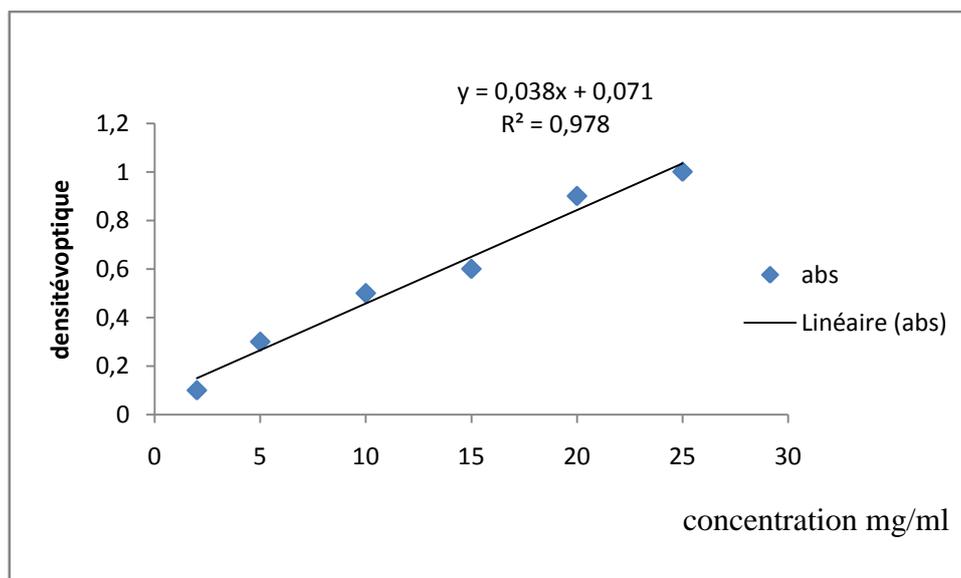
(préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables. Après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 760 nm. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et elle est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).



Courbe d'étalonnage des polyphénols

2 - les flavonoïdes :

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃) citée par (Djeridane *et al.*, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits des feuilles. 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) est ajouté à 1 ml de la solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 415 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).



Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

ANNEXES

V - Extraction des éléments minéraux

Les analyses de quelques éléments minéraux ont été effectuées sur les feuilles, les tiges et les racines et ont porté sur la détermination des teneurs en sodium et en potassium.

Le choix du dosage de ces cations est basé sur le fait que:

- Les ions, Na^+ et K^+ jouent un rôle clé dans le processus d'osmoregulation.

Les feuilles et les racines de chaque plante sont enveloppées séparément dans du papier aluminium, puis numérotées. Les lots de chacun des organes sont étuvés pendant 48 heures à 80°C . Les échantillons sont broyés à l'aide d'un broyeur. La fine poudre obtenue est placée dans des piluliers fermés hermétiquement.

500 mg de matériel végétal préalablement séchés, sont introduits dans un creuset en porcelaine. Le creuset est placé dans un four dont la température est augmentée progressivement jusqu'à 500°C et qui est ainsi maintenue pendant 2 heures. Un pallier est effectué aux alentours de 200°C jusqu'à la fin du dégagement de fumées

Après refroidissement, les cendres sont humectées avec quelques gouttes d'eau distillée, puis on ajoute 2 ml d'HCl au 1/2. On évapore à sec sur plaque chauffante. On ajoute une seconde fois 2 ml d'HCl, on laisse en contact 10 minutes et on filtre dans des fioles jaugées de 50 ml. Après avoir ajusté au trait de jauge puis homogénéisé par agitation manuelle, les solutions sont transvasées dans des godets sur lesquels le numéro de l'échantillon est inscrit. Cette solution est prête aux dosages par spectrophotomètre à flamme pour les deux éléments minéraux à savoir le sodium et le potassium.

Dosage du sodium et du potassium par le spectrophotomètre à flamme

Pour chaque élément minéral à doser, des solutions étalons à des concentrations connues doivent être préparées à partir d'une solution mère de 01 g.l^{-1} pour chaque élément, à partir de cette dernière, les solutions filles où solutions étalons peuvent être facilement reproduites.

1- Le potassium

Pour préparer une solution standard de potassium, il faut mettre 1.000 g du chlorure de potassium (KCl) desséché dans une fiole jaugée d'un litre de capacité et compléter le volume avec de l'eau déminéralisée jusqu'au trait de jauge.

2- Le sodium

Pour préparer une solution standard de sodium, il faut mettre 1.000 g du chlorure de sodium (NaCl) desséché dans une fiole jaugée d'un litre de capacité, puis compléter le volume avec de l'eau déminéralisée jusqu'au trait de jauge.

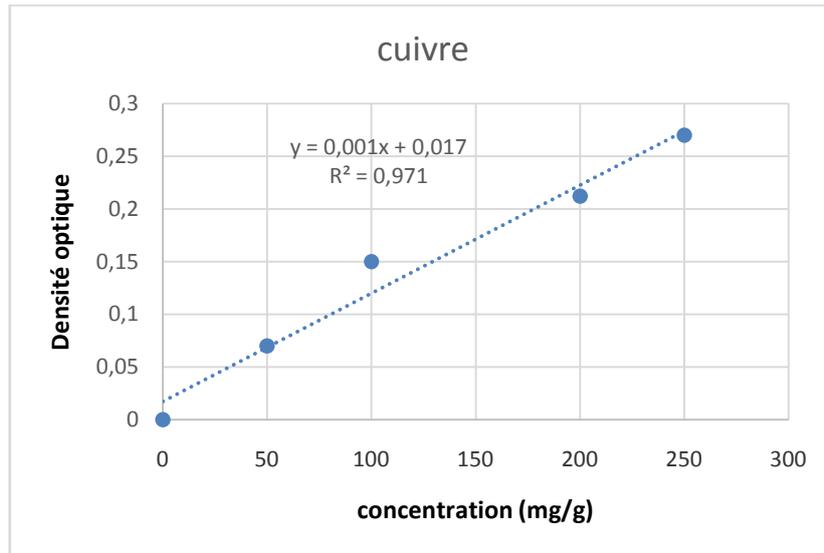
3- Dosage de cuivre

Une quantité de 0,4 g d'échantillon broyé est pesée dans un creuset en porcelaine puis mis au four (PROLABO) à 650°C pendant 5 h. Après refroidissement, 5ml d'acide nitrique 1 mol est ajouté à la cendre obtenue puis porté à évaporation totale sur un bain de sable. Au résidu sont ajoutés 5ml d'acide chlorhydrique 0,1 mol. Il est ensuite remis au four à 400°C pendant 30 min. Le résidu final est récupéré avec 10 ml d'acide chlorhydrique 1 mol puis versé dans une fiole de 50 ml. Le creuset est rincé deux fois avec 10 ml de l'acide chlorhydrique. La fiole est complétée à 50ml avec l'acide chlorhydrique. Dans les mêmes conditions, un essai à blanc est réalisé.

ANNEXES

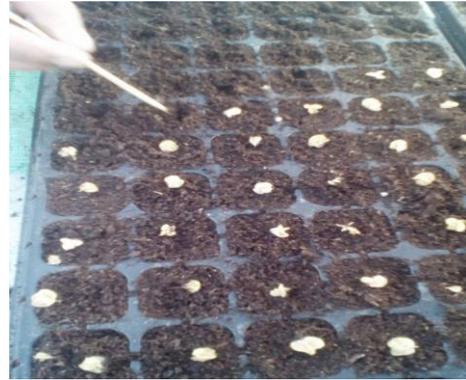
Préparation des gammes d'étalonnage

Pour le cuivre, des volumes de 0, 50, 100, 150, 200, 250 et 300 ml de solution à 100 µg/ml de cuivre sont introduits successivement dans sept fioles jaugées différentes de 100 ml chacune. Ensuite un volume de 2 ml d'acide chlorhydrique concentré est ajouté dans chacune des fioles. Enfin ces volumes sont ramenés à 100 ml avec de l'eau déminéralisée.



ANNEXES

ANNEXES 20. Photos Déférentes étapes de Protocole expérimentale



Etape 1. Germination



Etape 2. Préparation du Substrat

ANNEXES



Etape 3. Repiquage



Etape 4. Application de stress après 03 mois de repiquages

Publication