

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عبد الحميد بن باديس \_ مستغانم



UNIVERSITE  
Abdelhamid Ibn Badis  
MOSTAGANEM

UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS DE MOSTAGANEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Filière : Biologie

Option : Sciences du Sol et Environnement



UNIVERSITE  
Abdelhamid Ibn Badis  
MOSTAGANEM

THESE

PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE

DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par ;

M. BENOUIS Sliman

**Effet du cuivre sur les paramètres  
morpho-physiologiques et enzymatiques  
chez la fève (*Vicia faba* L.)**

Laboratoire de la Biodiversité et Conservation des Eaux et des sols, université de Mostaganem.

Soutenue publiquement le 28/11/2022 Devant le jury :

M. CHIBANI Abdelwaheb Professeur à l'université de Mostaganem	<b>Président</b>
M. REGUIEG YSSAAD Houcine Abdelhakim Professeur à l'université de Mostaganem	<b>Rapporteur</b>
M. BELKHODJA Moulay Professeur à l'université d'Es Senia Oran	<b>Examineur</b>
Mme. BOUALEM Malika Maitre de conférences A à l'université de Mostaganem	<b>Examineur</b>
M. HASSANI Abdelkrim Professeur à l'université de Tiaret	<b>Examineur</b>
M. BOUTIBA Abdelkader Professeur à l'université de Chlef	<b>Examineur</b>

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2022 / 2023



## *Remerciements*

---

*Mous 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.*

*Je tiens en premier lieu à remercier mon Directeur de thèse, Monsieur **REGUIEG YSSAAD Houcine Abdelhakim**, Professeur à l'Université de Mostaganem, pour avoir accepté de m'encadrer dans cette étude. Je le remercie pour son implication, son soutien et ses encouragements tout au long de ce travail. Merci d'avoir reconnu mes efforts et mes difficultés.*

*Je tiens à remercier Monsieur **CHIBANI Abdelwaheb**, Professeur à l'Université de Mostaganem, pour avoir accepté de présider mon jury et pour ses observations qui m'ont permis d'améliorer la qualité de ce travail.*

*J'associe à ces remerciements Monsieur **BELKHODJA Moulay**, Professeur à l'université d'Es Senia Oran, qui m'a honoré par sa présence et d'avoir accepté d'examiner mon travail.*

*Je remercie Monsieur **HASSANI Abdelkrim**, Professeur à l'université de Tiaret, pour l'intérêt qu'il a porté à mes travaux en examinant ce travail, pour ses conseils avisés et pour l'honneur qu'il me fait en participant à ce jury.*

*Je remercie également Monsieur **BOUTIBA Abdelkader**, Professeur à l'université de Chlef, pour toute l'attention dont il a fait preuve en examinant ce travail et pour l'honneur qu'il me fait en participant à ce jury.*

*Je remercie **Mme. BOUALEM Malika** Maitre de conférences A à l'université de Mostaganem, pour ses remarques avisées et sa franchise qui m'ont permis d'améliorer la qualité de ce travail. Je tiens à lui exprimer mes remerciements pour l'honneur qu'elle me fait en participant à ce jury.*

*Je voudrais exprimer ma gratitude au personnel du laboratoire de biodiversité et conservation des eaux et des sols, (ex L'INES) de l'université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem, pour leur soutien, leurs encouragements, et de m'avoir accueilli au laboratoire pour réaliser mes analyses.*

*Je ne souhaite pas oublier le personnel du laboratoire de nutrition du Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine et de la station régionale d'expérimentation INSID de Ksar Chellala-Tiaret pour leur soutien, leurs encouragements, et de m'avoir accueilli au laboratoire pour réaliser mes analyses.*

*Je tiens à remercier chaleureusement mes amis **NOURI T, DJOUDI AH et OUAINI AR***

*Tout particulièrement, j'adresse mes remerciements à mon ami Monsieur **BOUZIANI EL Hadj**, pour son aide, sa disponibilité, ces encouragements et ces conseils toujours très avisés qu'il a apporté à mon projet de recherche.*

*Bien entendu, cette liste n'est pas exhaustive et je remercie tous ceux et celles qui me connaissent et qui me permettent de me sentir exister.....**Merci à toutes et à tous.***

## **RESUME.**

Le cuivre est un métal essentiel pour les plantes avec une faible quantité, il est impliqué dans plusieurs processus physiologique et biochimique cellulaire. L'excès de cuivre dans le sol est toxique pour les plantes cultivées, et peut provoquer diverses modifications physiologiques et morphologiques. L'objectif de cette recherche était d'évaluer l'effet d'un excès de cuivre sur le comportement morfo-physiologique et enzymatique de la fève (*Vicia faba* L.). Cette plante d'intérêt agronomique est utilisée comme modèle biologique pour les études éco-toxicologiques. Notre étude consiste à suivre la croissance des deux variétés de la fève (Sidi Aïch et Super Aguadulce) stressés par le cuivre pendant 30 jours. Les plantes de la fève sont cultivées dans un substrat constitué de sable et de terreau (3v/1v) et contaminé par différentes doses de cuivre sous forme de  $\text{Cu SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , avec les doses suivantes ; 0. 200. 400. 600. 800 et 1000 ppm. L'effet du cuivre sur le développement de la fève est mesuré par des paramètres morfo-physiologiques et enzymatiques. A la concentration 200 ppm de Cu, la croissance des plantes n'a pas été affecté significativement par le cuivre, le Cu est accumulé dans les racines et faiblement transloqué vers la partie aérienne, comme mécanisme de tolérance à l'excès de cuivre afin de préserver les tissus les plus métaboliquement actifs présents dans les feuilles de la plante. Par contre, l'application de cuivre à partir de la dose 400 ppm, a conduit à l'accumulation de cuivre dans les racines et les parties aériennes, entraînant à leur tour une modification morphologique entière de la plante en diminuant la hauteur des tiges, nombre de folioles, la surface foliaires, le volume racinaire et une réduction de plus de 10% de la biomasse sèche de la fève. Les analyses physiologiques et biochimiques révèlent une réduction de l'activité photosynthétique avec un abaissement de contenu en protéines et un déséquilibre de statu hydrique de la fève. En plus, la toxicité du cuivre stimule la production des osmo-régulateurs (proline et les sucres solubles) dans les feuilles, avec une surproduction des polyphénols et des flavonoïdes et une activation importante des enzymes antioxydants (CAT et POD). L'excès de cuivre dans le sol provoque une toxicité stressante de la fève, affectante leur croissance. La concentration de 400 ppm présente une dose critique limite de la toxicité du cuivre, car au-delà de cette dose, le cuivre affecte divers processus morfo-physiologiques et enzymatiques chez la fève.

**Mot clé :** cuivre, *Vicia faba*, toxicité, sol, morfo-physiologiques, enzymatiques.

## ***Abstract.***

Copper is an essential metal for plants at a low amount, it is involved in several physiological and biochemical cellular processes. Copper excess in the soil is toxic to plants crop, and can cause various physiological and morphological changes. The objective of this research is to evaluate the effect of copper excess on the morpho-physiological and enzymatic compartment of broad bean (*Vicia faba* L.). This plant of agronomic value is used as a biological model for eco-toxicological studies. Our study consists of following the growth of two varieties of the faba bean (Sidi Aïch and Super Aguadulce) stressed by copper during 30 days. The broad bean plants were grown in a substrate made of sand and compost (3v/1v) and contaminated with different doses of copper in the form of  $\text{Cu SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , with the following doses; 0. 200. 400. 600. 800 and 1000 ppm. The effect of copper on the development of the broad bean is measured by morpho-physiological and enzymatic parameters. At the concentration 200 ppm of Cu, the plant growth was not affected significantly; Cu is accumulated in the roots and weakly translocated to the aerial part, as a tolerance mechanism to the excess of copper in order to maintain the most active metabolic tissues present in the leaves. On the other hand, the application of copper from the dose 400 ppm, led to the accumulation of copper in the roots and aerial parts, causing in return a whole morphological modification of the plant by decreasing the height of the stems, number of leaflets, leaf surface, root volume and a reduction of more than 10% of the dry biomass of the broad bean. Physiological and biochemical analyses revealed a reduction of photosynthetic activity with a lowering of protein content and an imbalance in the water status of the faba bean. In addition, copper toxicity stimulated the production of osmoregulators (proline and soluble sugars) in the leaves, with an overproduction of polyphenols and flavonoids and an important activation of antioxidant enzymes (CAT and POD). Copper excess in the soil caused stress toxicity to the broad bean, affecting their growth. The concentration of 400 ppm presented a critical dose limit of copper toxicity, because beyond this dose, copper affected various morpho-physiological and enzymatic processes in the broad bean.

***Keywords:*** Copper, *Vicia faba*, Toxicity, soil, morpho-physiological, enzymatic

## الملخص

يعتبر النحاس معدناً أساسياً للنباتات حيث يحتاجه بكمية قليلة، ويدخل النحاس في العديد من العمليات الفسيولوجية والبيو كيميائية الخلوية. التركيز العالي للنحاس في التربة يعتبر سام للمحاصيل، وقد يسبب تغيرات فيزيولوجية ومورفولوجية مختلفة للنبات. الهدف من هذا البحث هو تقييم تأثير النحاس الزائد على السلوك المورفولوجي، الفيزيولوجي والإنزيمي للفاول (*Vicia faba. L*). يستخدم هذا النبات ذو الأهمية الزراعية كنموذج بيولوجي لدراسات السمية الإيكولوجية. تتألف دراستنا من متابعة نمو نوعين من الفول (سيدي عيش وسوبر أغوادولس) المجهد بالنحاس لمدة 30 يوماً. تُزرع نباتات الفول في وسط مكون من الرمل وسماد عضوي (3 حجم / 1 حجم) وملوث بجرعات مختلفة من النحاس على شكل  $Cu SO_4 \cdot 5H_2O$  بالتركيز التالية: 0. 200. 400. 600. 800 و1000 جزء في المليون. تم قياس تأثير النحاس على تطور نبات الفول من خلال المعلمات المورفولوجية، الفسيولوجية والإنزيمية. عند تركيز 200 جزء في المليون من النحاس، لم يتأثر نمو النبات بشكل كبير بالنحاس، حيث تراكم النحاس في الجذور وانتقل قليلاً إلى الجزء العلوي، كآلية تحمل للنحاس الزائد من أجل الحفاظ على الأنسجة الأكثر نشاطاً من الناحية الأيضية الموجودة في الأوراق. ومن ناحية أخرى، أدى إضافة النحاس بدءاً من تركيز 400 جزء في المليون إلى تراكم النحاس في الجذور والجزء الخضري للنبات، مما أدى بدوره إلى تغير مورفولوجي كامل للنبات عن طريق انخفاض طول السيقان وعدد الوريقات ومساحة الأوراق مع انخفاض بأكثر من 10% من الوزن الجاف للنبات. كشفت التحليلات الفسيولوجية والبيوكيميائية عن انخفاض في نشاط التمثيل الضوئي مع انخفاض محتوى البروتين وعدم توازن المحتوى المائي للأوراق. بالإضافة إلى ذلك، حفزت سمية النحاس إنتاج منظمات التناضح (البرولين والسكريات القابلة للذوبان) في الأوراق، مع زيادة إنتاج البوليفينول والفلافونويد وتنشيط إنزيمات مضادات الأكسدة (CAT وPOD). يسبب النحاس الزائد في التربة سمية مرهقة للفول، مما يؤثر على نموه. لوحظ تركيز 400 جزء في المليون انه يمثل حد الجرعة الحرجة لسمية النحاس، لأن تجاوز هذه الجرعة من النحاس يؤثر على العمليات المورفولوجية-الفسيولوجية والإنزيمية في الفول.

**الكلمات المفتاحية:** النحاس، الفول، السمية، التربة، المورفولوجية، الفسيولوجية، الإنزيمية

## Liste des abréviations

<b>ΔDO</b> : Delta Densité Optique.	<b>Kcal</b> : kilocalorie
<b>1O<sub>2</sub></b> : L'oxygène singulet	<b>M.S</b> : matière sèche.
<b>ABA</b> : acide abscissique.	<b>Meq/100g</b> : milliéquivalent par 100 grammes.
<b>ADN</b> : acide désoxyribonucléique	<b>MOS</b> : Matière organique du sol.
<b>APx</b> : ascorbate peroxydase.	<b>MO</b> : Matière organique
<b>AHA</b> : acides α-hydroxylés	<b>MOD</b> : Matière Organique Dissoute
<b>ATPase</b> : adénosine-triphosphate	<b>Mt/an</b> : un million (10 <sup>+6</sup> ) de tonnes (mégatonne) par an
<b>ATX1</b> : Antioxydant Protein 1	<b>ng.m<sup>-3</sup></b> : Nano-gramme par mètre cube
<b>CAT</b> ; EC1.11.1.6 : catalase.	<b>OMS</b> : Organisation mondiale de la santé
<b>FRO</b> : Ferric Reductase Oxidase	<b>P<sub>1B</sub> ATPases</b> : heavy metal pumps.
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> : Le peroxyde d'hydrogène	<b>p</b> : probabilité.
<b>HO•</b> : Le radical hydroxyle	<b>POD</b> : peroxydase.
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b> : Le radical superoxyde	<b>ppm</b> : partie par million..
<b>SCO1</b> : Synthesis of Cytochrome c Oxidase	<b>RUBISCO</b> : Ribulose 1,5 bisphosphate carboxylase/oxygénase.
<b>ZIP</b> : Zinc transporter proteins	<b>SAA</b> : Spectrométrie d'Absorption Atomique.
<b>ZRT</b> : Zinc-Regulated Transporters.	<b>SOD</b> : superoxyde dismutase
<b>NRAMP</b> : Natural Resistance-Associated Macrophage Proteins.	<b>GPX</b> : glutathion peroxydase
<b>CRBT</b> : Centre de Recherche en Biotechnologie.	<b>APX</b> : l'ascorbate peroxydase
<b>COPT1</b> : Copper Transporter 1	<b>AsA</b> : l'acide ascorbique
<b>CTR</b> : Copper Transporter	<b>ROS</b> : Espèces réactives de l'oxygène
<b>COX</b> : cytochrome <i>c</i> oxydase	<b>TF</b> : facteur de translocation.
<b>CCH</b> : Copper CHaperone	<b>TFC</b> : Composés Flavonoïdes Totaux.
<b>CCS</b> : Copper chaperone for superoxide dismutase	<b>TPC</b> : Composés Phénoliques Totaux.
<b>SpL7</b> : Squamosa promoter-binding-like protein 7	<b>U.S.D.A</b> : United States Department of Agriculture.
<b>COD</b> : Carbone organique dissous	<b>UNEP</b> : United Nations Environnement Programme.
<b>PSII</b> : Photosystem II	<b>C.E.C</b> : Capacité d'échange Cationique
<b>EDTA</b> : Acide éthylène diamine tétra-acétique	<b>nm</b> : nanomètre.
<b>Eh</b> : potentiel d'oxydoréduction.	<b>Å</b> : Angström.
<b>ETM</b> : élément trace métallique.	<b>dS/m</b> : deci-Simens par mètre.
<b>ETC</b> : electronic transport Chain	
<b>FBC</b> : facteur de bioconcentration.	
<b>GPx</b> ; CE1.11.1.7 : gaïacol peroxydase.	
<b>HMA</b> : Heavy Metal-transporting P-type ATPases	
<b>ITGC</b> : Institut technique des grandes cultures	

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Sources anthropiques du cuivre .....	7
<b>Figure 2</b> : Différentes formes de cuivre dans le sol en fonction des échanges entre les compartiments du sol.....	10
<b>Figure 3</b> : Complexes de sphère interne et de sphère externe à la surface d'une silice.....	11
<b>Figure 4</b> : Diagramme hypothétique représentant la distribution des transporteurs de Cu localisés dans les plantes .....	16
<b>Figure 5</b> : Production des ROS (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , HO., 1O <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> •-) et les antioxydants (CAT, SOD, APX, AA, GR, POD).....	24
<b>Figure 6</b> : Dommages cellulaires causés par les espèces réactives de l'oxygène dans les plantes.....	25
<b>Figure 7</b> : Les différentes parties de la fève <i>Vicia faba</i> L.....	30
<b>Figure 8</b> : Fleurs de la fève.....	31
<b>Figure 9</b> : Grains de la fève .....	32
<b>Figure 10</b> : Schéma de la répartition des pots de culture dans la serre.....	36
<b>Figure 11</b> : Culture de la fève dans les pots. ....	37
<b>Figure 12</b> : Schéma de conduite de l'expérimentation.....	38
<b>Figure 13</b> : Evolution de la hauteur de tige (cm) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm).....	43
<b>Figure 14</b> : Evolution du nombre de folioles de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm).....	43
<b>Figure 15</b> : Evolution de la surface foliaire (cm <sup>2</sup> ) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). ....	45
<b>Figure 16</b> : Evolution du volume racinaire (ml) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). ....	45
<b>Figure 17</b> : Evolution du poids sec (g) de la partie racinaire de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). ....	47
<b>Figure 18</b> : Evolution du poids sec (g) de la partie Aérienne de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). ....	48
<b>Figure 19</b> : Régression linière des paramètres morphologiques en fonction de la dose du cuivre appliquée (ppm) avec le R <sup>2</sup> (R-square) pour V1 (Sidi Aich) et V2 (Super Aguadulce).....	49
<b>Figure 20</b> : Evolution de la teneur en chlorophylle a (mg/g) de la fève (V1 V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm).....	50
<b>Figure 21</b> : Evolution de la teneur en chlorophylle b (mg/g) de la fève (V1 V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm).....	51
<b>Figure 22</b> : Evolution de la teneur en caroténoïdes (mg/g) de la fève (V1 V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) .....	51
<b>Figure 23</b> : Evolution de la teneur en protéines (mg/g) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). ....	54
<b>Figure 24</b> : Evolution de la teneur en eau relative (%) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). ....	54
<b>Figure 25</b> : Evolution de la teneur en proline (µg/g) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). ....	56
<b>Figure 26</b> : Evolution de la teneur en sucres solubles (µg/g) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). ....	56
<b>Figure 27</b> : Régression linière de la teneur des pigments chlorophylliens en fonction de la dose du cuivre appliquée (ppm) .....	59
<b>Figure 28</b> : Régression linière de la teneur en protéines (D), teneur relative en eau (E), teneur en proline (F) et sucres solubles (G) en fonction de la dose du cuivre appliquée (ppm).....	59

<b>Figure 29:</b> Evolution de la teneur en polyphénols totaux ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). .....	61
<b>Figure 30:</b> Evolution de la teneur en flavonoïdes ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). .....	61
<b>Figure 31:</b> Evolution de l'activité de la catalase ( $\Delta\text{DO}240/\text{mg}$ protéine) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). .....	63
<b>Figure 32:</b> Evolution de l'activité peroxydase ( $\Delta\text{DO}470/\text{mg}$ protéine) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). .....	63
<b>Figure 33:</b> Régression linière de la teneur en Flavonoïdes (A) et en polyphénols (B) ( $\mu\text{g}/\text{g}$ ) .....	65
<b>Figure 34:</b> Régression linière de l'activité de la peroxydase (C) et de la catalase (D) (unité) .....	65
<b>Figure 35:</b> Evolution de la teneur en cuivre accumulée dans la partie racinaire ( $\text{mg}/\text{g}$ MS) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). .....	67
<b>Figure 36:</b> Evolution de la teneur en cuivre accumulée dans la partie aérienne ( $\text{mg}/\text{g}$ MS) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). .....	67

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Concentrations de cuivre couramment observées (ppm) dans divers milieux environnementaux.....	9
<b>Tableau 2:</b> Protéines associées au cuivre et leurs fonctions chez les plantes .....	17
<b>Tableau 3:</b> Compositions du terreau .....	35
<b>Tableau 4:</b> Propriétés physico-chimiques du substrat.....	35
<b>Tableau 5:</b> Composition de la solution nutritive Actifeg.....	37
<b>Tableau 6 :</b> Hauteur de la tige (cm) des deux variétés de la fève exposée au cuivre.....	42
<b>Tableau 7:</b> Analyse de la variance des paramètres morphologiques (Annexe. 3). .....	43
<b>Tableau 8:</b> Nombre de folioles des deux variétés de la fève exposées au cuivre. ....	44
<b>Tableau 9:</b> Surface foliaire (cm <sup>2</sup> ) des deux variétés de la fève exposées au cuivre. ....	45
<b>Tableau 10:</b> Volume racinaire (ml) des deux variétés de la fève exposées au cuivre.....	46
<b>Tableau 11:</b> Poids sec de la partie racinaire (Ps. R) et la partie aérienne (Ps. A) en g des deux variétés de la fève exposées au cuivre. ....	47
<b>Tableau 12:</b> Teneur en chlorophylle a (mg/g) des deux variétés de la fève exposées au cuivre. ....	50
<b>Tableau 13:</b> Teneur en chlorophylle b (mg/g) des deux variétés de la fève exposées au cuivre. ....	52
<b>Tableau 14:</b> Teneur en caroténoïdes (mg/g) des deux variétés de la fève exposées au cuivre.....	53
<b>Tableau 15:</b> Teneur en protéines (mg/g MF) dans les feuilles des deux variétés de la fève exposées au cuivre. ....	53
<b>Tableau 16:</b> Teneur relative en eau (TRE) des deux variétés de la fève (V1, V2) en fonction des doses de cuivre.....	55
<b>Tableau 17:</b> Teneurs en proline (µg/g) des deux variétés de la fève (V1, V2) en fonction des doses de cuivre. ....	56
<b>Tableau 18:</b> Teneur en sucres solubles (µg/g) des deux variétés de la fève (V1 et V2) en fonction des doses de cuivre. ....	57
<b>Tableau 19:</b> Analyse de la variance des paramètres physiologiques (Annexe. 3). .....	57
<b>Tableau 20:</b> Teneur en polyphénols totaux (µg/mg MS) des deux variétés de la fève V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction des doses de cuivre.....	60
<b>Tableau 21:</b> Teneur en Flavonoïdes (µg/mg) des deux variétés de la fève V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose de cuivre.....	62
<b>Tableau 22:</b> Analyse de la variance des paramètres enzymatiques et non enzymatiques (Annexe. 3). .....	62
<b>Tableau 23:</b> Activité catalase (ΔO <sub>2</sub> 40/mg protéine) des deux variétés de la fève V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose de cuivre.....	63
<b>Tableau 24:</b> Activité peroxydase (ΔDO <sub>2</sub> 40/mg protéine) des deux variétés de la fève V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose de cuivre. ....	64
<b>Tableau 25:</b> Accumulation de cuivre (ppm) dans la partie racinaire et la partie aérienne des deux variétés de la fève V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce). ....	66
<b>Tableau 26:</b> Analyse de la variance de l'accumulation de cuivre dans la fève (Annexe. 3). ....	66
<b>Tableau 27:</b> Facteur de translocation de cuivre chez les deux variétés de la fève (V1 et V2). ....	68
<b>Tableau 28:</b> Principaux résultats de l'effet du cuivre sur le comportement morpho-physiologiques et enzymatiques de la fève. (a, b, c,.. : groupes homogènes) .....	86
<b>Tableau 29:</b> Niveaux de la toxicité du cuivre sur la croissance de la fève.....	87

## **Liste des annexes**

**Annexe 1** : Analyses physico-chimiques du sol

**Annexe 2** : Logiciel Image j

**Annexe 3** : Analyse de variance

**Annexe 4** : Comparaisons de moyennes

**Annexe 5** : Corrélation des paramètres étudiés

## Table des matières

Dedicaces	
Remerciements	
Resume	
Abstract	
ملخص	
Liste des Abreviations	
Liste des Figures	
Liste des Tableau	
Liste des Annexes	
<b>Introduction Générale</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre I. Synthèse Bibliographique</b> .....	<b>4</b>
<b>I.1 Métaux lourds</b> .....	<b>4</b>
<b>I.1.1 Généralité</b> .....	<b>4</b>
<b>I.1.2 Origine</b> .....	<b>4</b>
a. <b>Origine naturelle</b> .....	<b>5</b>
b. <b>Origine anthropique</b> .....	<b>5</b>
<b>I.2 Le cuivre</b> .....	<b>5</b>
<b>I.2.1 Généralité</b> .....	<b>5</b>
<b>I.2.2 Source naturelle</b> .....	<b>6</b>
<b>I.2.3 Source anthropique</b> .....	<b>6</b>
<b>I.2.4 Utilisation en agriculture</b> .....	<b>7</b>
<b>I.2.5 Concentration dans l'environnement</b> .....	<b>8</b>
<b>I.2.6 Cuivre dans le sol</b> .....	<b>9</b>
<b>I.2.6.1 Mobilité</b> .....	<b>9</b>
<b>I.2.6.2 Cuivre dans la phase solide</b> .....	<b>10</b>
a. <b>Interaction du cuivre avec les argiles</b> .....	<b>10</b>
b. <b>Interaction avec la MO</b> .....	<b>11</b>
c. <b>Interaction avec les oxydes et hydroxydes métalliques</b> .....	<b>12</b>
<b>I.2.6.3 Cuivre dans la solution du sol</b> .....	<b>12</b>
<b>I.2.6.4 Pollution des sols par le cuivre</b> .....	<b>13</b>
a. <b>Action du cuivre sur le sol</b> .....	<b>13</b>
<b>I.2.7 Cuivre dans la plante</b> .....	<b>14</b>
<b>I.2.7.1 Absorption du cuivre</b> .....	<b>14</b>
<b>I.2.7.2 Transport du cuivre vers la partie aérienne</b> .....	<b>14</b>
a. <b>Rôle de transporteur ATPase</b> .....	<b>14</b>
b. <b>Rôle de transporteur NA</b> .....	<b>14</b>

I.2.7.3 Homéostasie du cuivre dans la cellule végétale .....	15
I.2.7.4 Distribution intracellulaire du cuivre .....	15
I.2.7.5 Rôle du cuivre dans la plante .....	16
a. Rôle dans l'oxydo-réduction .....	17
b. Production des ROS .....	18
c. Transport d'électrons .....	18
d. Production de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	18
I.2.7.6 Carence du cuivre .....	18
I.2.8 Transfert sol-plante du cuivre .....	19
I.2.8.1 Biodisponibilité .....	19
I.2.8.2 Facteurs influençant la biodisponibilité du cuivre .....	19
a. pH du sol .....	19
b. Matière organique .....	19
c. Activités racinaires .....	20
d. Activités microbiennes .....	20
I.2.8.3 Mobilisation de cuivre dans la rhizosphère .....	21
I.2.9 Toxicité du cuivre .....	21
I.2.9.1 Bioaccumulation .....	21
I.2.9.2 Toxicité du cuivre pour les racines des plantes .....	22
I.2.9.3 Effet du cuivre sur la croissance des plantes .....	22
I.2.9.4 Toxicité du cuivre sur la morphologie des plantes .....	23
I.2.9.5 Toxicité du cuivre sur la physiologie des plantes .....	23
a. Toxicité sur la photosynthèse .....	23
b. Production d'espèces réactives dérivées de l'oxygène (ROS) .....	23
c. Altérations de la structure des protéines .....	24
d. Peroxydation lipidique .....	25
I.2.10 Homéostasie du cuivre .....	26
I.2.10.1 Rôle des enzymes antioxydantes .....	26
I.2.11 Effet du cuivre sur la santé humain : .....	26
I.2.11.1 Maladie de Wilson .....	27
I.3 La Fève .....	28
I.3.1 Introduction .....	28
I.3.2 Caractéristiques de la plante .....	29
I.3.2.1 Classification botanique de la fève .....	29
I.3.2.2 Description morphologique de la fève .....	29

a. Les racines .....	30
b. Les feuilles.....	31
c. Les fleurs.....	31
d. Les fruits .....	31
e. Les graines .....	32
I.3.3 Exigences de la fève.....	32
I.3.4 Cycle biologique de la fève.....	32
I.3.5 Importance agronomique .....	33
I.3.6 Intérêt en écotoxicologie .....	33
Chapitre II. Matériel et méthodes.....	34
II.1 Expérimentation.....	34
II.1.1 Objectif de travail .....	34
II.1.2 Matériel végétal.....	34
II.1.3 Substrat de culture .....	34
II.1.4 Dispositif expérimental .....	35
II.1.5 Conduite de l'essai.....	36
II.1.5.1 Stérilisation et mise en germination des graines .....	36
II.1.5.2 Repiquage des graines : .....	36
II.1.5.3 Application de stress métallique : .....	37
II.1.5.4 Mesure de la capacité de rétention pour l'arrosage .....	37
II.2 Méthodes.....	39
II.2.1 Paramètres morfo-physiologiques .....	39
II.2.1.1 Paramètres morphologiques.....	39
II.2.1.2 Paramètres physiologiques et biochimiques .....	39
A- Teneur relative en eau (TRE) .....	39
B- Paramètres biochimiques .....	39
a- Dosage des pigments chlorophylliens.....	39
b- Dosage des protéines.....	40
c- Dosage de la proline.....	40
d- Dosage des sucres solubles.....	40
II.2.2 Paramètres enzymatiques .....	40
II.2.2.1 Dosage des métabolites secondaires .....	40
a- Conteneur en Polyphénols TPC.....	40
b- Conteneur en flavonoïdes TFC.....	40
II.2.2.2 Dosage des enzymes antioxydantes .....	41

a- Dosage de Catalase (CAT; EC1.11.1.6) .....	41
b- Dosage de peroxydase Guaiacol (GPx;CE1.11.1.7) .....	41
II.2.3 Dosage de cuivre dans la plante .....	41
II.2.3.1 Facteur de translocation .....	41
II.2.4Analyse Statistique .....	41
Chapitre III. Résultats Et Discussion .....	42
III.1 Résultats .....	42
III.1.1 Effet du cuivre sur les paramètres morphologiques .....	42
III.1.1.1 Hauteur de la tige .....	42
III.1.1.2 Nombre de folioles .....	44
III.1.1.3 Surface foliaire .....	44
III.1.1.4 Volume racinaire .....	46
III.1.1.5 Poids sec .....	46
III.1.1.6 Corrélation des paramètres morphologiques .....	48
III.1.2 Effet du cuivre sur les paramètres physiologiques .....	49
III.1.2.1 Teneur en Chlorophylle a .....	49
III.1.2.2 Teneur en chlorophylle b : .....	51
III.1.2.3 Caroténoïdes .....	52
III.1.2.4 Teneur en protéines .....	53
III.1.2.5 Teneur relative en eau .....	54
III.1.2.6 Teneur en proline .....	55
III.1.2.7 Teneur en sucres solubles .....	57
III.1.2.8 Corrélation des paramètres physiologiques .....	58
III.1.3 Effet du cuivre sur l'activité antioxydante non enzymatique .....	60
III.1.3.1 Teneur en polyphénols totaux (TPC) .....	60
III.1.3.2 Teneur en flavonoïdes (TFC) .....	61
III.1.4 Effet du cuivre sur l'activité enzymatique antioxydant .....	62
III.1.4.1 Activité Catalase (CAT) .....	62
III.1.4.2 Activité Peroxydase (POD) .....	64
III.1.4.3 Corrélation des paramètres de l'activité antioxydante .....	64
III.1.5 Accumulation du cuivre dans la fève .....	65
III.1.5.1 Facteur de translocation de cuivre .....	67
III.2 Discussion Générale .....	69
III.2.1 Paramètres morphologiques .....	69
III.2.2 Paramètres physiologiques .....	71

<b>III.2.2.1 Pigments photosynthétiques.....</b>	<b>71</b>
<b>III.2.2.2 Protéines .....</b>	<b>73</b>
<b>III.2.2.3 Teneur relative en eau.....</b>	<b>74</b>
<b>III.2.2.4 Proline.....</b>	<b>75</b>
<b>III.2.2.5 Sucres solubles.....</b>	<b>75</b>
<b>III.2.3 Système anti-oxydant.....</b>	<b>77</b>
<b>III.2.3.1 Polyphénols et Flavonoïdes (TPC et TFC) .....</b>	<b>77</b>
<b>III.2.3.2 Catalase et Péroxydase.....</b>	<b>78</b>
<b>III.2.4 Accumulation et translocation du cuivre .....</b>	<b>79</b>
<b>Conclusion Générale.....</b>	<b>83</b>
<b>Perspectives .....</b>	<b>87</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>89</b>

***INTRODUCTION***  
***GENERALE***

La pollution de l'environnement, y compris le sol, est accélérée de façon spectaculaire depuis le début de la révolution industrielle (**Wang et al., 2018**). Les activités anthropiques telles que les effluents industriels, les boues minières et d'épuration ainsi que l'application d'engrais et de pesticides sont les principales sources d'accumulation de métaux lourds dans les sols (**Gallego et al., 2012**). Par conséquent, différentes cultures vivrières et fourragères cultivées sur des sols contaminés par des métaux, peuvent accumuler des concentrations élevées de métaux, provoquant une menace grave pour la santé humaine et animale (**Rattan et al., 2005; Kulhari et al., 2013**).

Le cuivre (Cu) fait partie des métaux lourds les plus abondants dans les sols agricoles. Les pesticides à base de cuivre, en particulier les bactéricides, les fongicides et les herbicides, sont largement utilisés dans les pratiques agricoles à travers le monde (**Husak, 2015**). En Algérie, l'accumulation de cuivre dans les sols agricoles est très élevée, en raison de l'utilisation excessive des engrais chimiques et des produits phytosanitaires.

La concentration en Cu dans le sol dépend des interactions complexes entre la roche mère, les propriétés physico-chimiques du sol et les apports provenant de l'agriculture ou de l'industrie (**Ballabio et al., 2018**). La concentration moyenne de Cu dans le monde serait de 8 mg kg<sup>-1</sup> dans les sols sableux acides à 80 mg kg<sup>-1</sup> dans les sols lourds argileux, les limites de la toxicité du cuivre ont été établies entre 20 et 100 mg kg<sup>-1</sup> (**Kabata - Pendias, 2001**). Dans la plante, la teneur optimale en Cu est entre 5 à 20 mg kg<sup>-1</sup> (**Ballabio et al., 2018**). La concentration critique de Cu dans les tissus, définie comme une diminution de 10 % du rendement en matière sèche, varie de 20 à 30 mg kg<sup>-1</sup> selon l'espèce végétale (**Ballabio et al., 2018 ; Kabata-Pendias, 2011 ; Yang et al., 2002**), Nombreuses régions ont été développées sans planification adéquate, ce qui a entraîné des sols pollués par divers métaux, notamment le cuivre (**Tahar et Keltoum 2011; Bensehoub et al., 2015 ; Laribi et al., 2019 ; Boudia et al., 2019**).

Le cuivre est un oligo-élément essentiel à faible dose aux plantes. Au niveau du métabolisme de la plante, le cuivre joue un rôle important dans de multiples systèmes enzymatiques tels que la photosynthèse, la respiration, l'alimentation, la fertilité ou la détoxification. (**Contreras et al., 2018**). Cependant, la concentration de cuivre dans les composants cellulaires doit être maintenue à un niveau bas, car le niveau toxique de Cu peut induire des altérations de la photosynthèse, de la respiration, de l'activité enzymatique, de l'ADN et de l'intégrité de la membrane, conduisant à une croissance inhibée et à une survie en danger des plantes (**Vinit-Dunand et al. 2002 ; Zhao et al., 2010**).

L'excès de cuivre peut réduire la croissance des plantes en perturbant les enzymes impliquées dans les processus physiologiques essentiels au développement, ou l'induction d'un stress oxydatif pouvant conduire à la mort cellulaire (**Shabbir et al., 2020**). Le cuivre s'accumule dans le tissu racinaire et particulièrement dans l'apoplasme et peut être transféré aux pousses, sa phytotoxicité agit principalement sur la croissance et la morphologie du système racinaire et aérienne (**Yang et al., 2015**). La diminution de l'absorption de nutriments est un indicateur de la toxicité du Cu, alors que la perméabilité de la membrane et le rôle des transporteurs sont influencés négativement (**Cambrolle et al., 2015**).

Le cuivre peut affecter la biosynthèse du mécanisme photosynthétique, en modifiant la composition des pigments et des protéines des membranes photosynthétiques (**Kumar et al., 2021**). Il perturbe le métabolisme lipidique et la structure membranaire (**Adrees et al., 2015**). En présence de forte concentration, le cuivre perturbe le métabolisme hydrique (**Jouili et El Ferjani 2003**), réduit le taux de protéines (**Huang et al., 2020**) et décline la biomasse végétale (**Nazir et al., 2019**).

Des concentrations élevées de cuivre peuvent provoquer un stress qui active les signaux intracellulaires et entraîne des lésions cellulaires (**Liu et al., 2018a**). En outre, l'expression d'enzymes antioxydantes, telles que le superoxyde dismutase (SOD), la peroxydase (POD) et le catalase (CAT) sous l'effet du stress au cuivre, joue un rôle important dans la réduction de la toxicité du Cu dans les plantes (**Mostofa et Fujita, 2013 ; Tie et al., 2014**). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire. (**Frary et al. 2010**).

La fève (*Vicia faba* L.) est une légumineuse à grains riche en protéines appartenant à la famille des Fabacées, dont la culture est pratiquée depuis longtemps dans la zone tempérée de l'hémisphère nord, elle est principalement récoltée sous forme de graines sèches pour l'alimentation humaine ou animale (**Duc et al., 2015**). En Algérie, la fève occupe la première place parmi les légumineuses en raison de sa valeur nutritionnelle élevée et de ses divers usages. Elle est principalement cultivée dans les plaines et les régions subtotaies ; et a un rôle important dans l'économie nationale et dans la production agricole. (**Aouar-Sadli et al, 2008**).

Outre son importance agronomique, la fève est également utilisée comme modèle biologique important pour les études éco-toxicologiques.

## ***Introduction Générale***

---

L'objectif de ce travail de recherche est l'étude de l'effet du stress métallique par le cuivre sur les paramètres morpho-physiologiques et enzymatiques de la fève (*Vicia faba* L.) chez deux variétés Sidi Aich et Super Aguadulce. Des doses stressantes de cuivre sous forme de  $\text{CuSO}_4$  ont été appliquées dans le substrat de culture des deux variétés de la fève.

Ce travail est divisé en trois chapitres : Le premier chapitre est une synthèse bibliographique, répertoriant les principales informations relatives à notre travail. Chapitre deux, matériels et méthodes illustrent les protocoles expérimentaux et les techniques analytiques utilisés. En fin, un troisième chapitre, concerne résultats, discussion, conclusion générale et les perspectives.

# ***CHAPITRE I.***

## ***SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE***

## **I.1 Métaux lourds**

### **I.1.1 Généralité**

Les éléments traces métalliques (ETM) définis comme des métaux lourds. On appelle métaux lourds tout élément métallique naturel dont la masse volumique dépasse  $5\text{g/cm}^3$ . Ils englobent l'ensemble des métaux (Pb, Zn, Cu etc.) et métalloïdes (As, B, Se) présentant un caractère toxique pour la santé et l'environnement (**Kabata-Pendias et Pendias, 2001**). En fonction de leurs effets physiologiques et toxiques, on en distingue deux types : métaux essentiels et non essentiels.

- Les métaux essentiels sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques. Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du fer (Fe) (**Sinicropi et al., 2010**).
- Les métaux non-essentiels (métaux toxiques) ont un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg), du cadmium (Cd) (**Kabata-Pendias et Pendias ; 2001; Migeon, 2010**).

Ils sont une préoccupation majeure du fait de leur (éco) toxicité, leur persistance dans les sols, leurs effets toxiques sur les plantes cultivées et leur présence très fréquente dans les zones urbaines les plus peuplées (**Wu et al., 2015**). Ainsi, l'excès de polluants métalliques peut induire une dégradation de la qualité des sols en particulier dû à leurs effets écotoxiques sur les microorganismes (**Bérard et al., 2015**), ce qui peut avoir des conséquences négatives sur les services écosystémiques tels que la biodégradation de la matière organique ou la production végétale (**Austruy et al., 2016**). Au cours des dernières décennies, la quantité de métaux lourds d'origine anthropique rejetée dans les sols de notre planète a fortement augmenté ; les quantités suivantes ont été estimées par **Singh et al., (2011)** : 783.000 tonnes de plomb, 22.000 t de cadmium, 1.350.000 t de zinc et 939.000 t de cuivre.

### **I.1.2 Origine**

Les métaux lourds constituent de sérieux polluants environnementaux, en particulier dans les zones à haute pression anthropique ; leur présence dans l'atmosphère, le sol et l'eau, même sous forme de traces, peut causer de graves problèmes à tous les organismes. (**Akujobi,**

2012). Dans les cinquante dernières années, l'utilisation des métaux lourds a fortement augmenté, et les rejets anthropogéniques ont été multipliés par trois (**Kopittke et al., 2011**).

### **a. Origine naturelle**

Les ETM sont naturellement présents dans les sols en faibles quantités. Ils sont en partie libérés lors de l'altération de la roche mère (roches magmatiques, métamorphiques ou sédimentaires) par l'altération des minéraux primaires et secondaires comme les argiles, oxydes et carbonates (**Toth et al., 2016**). Ils constituent le pool endogène appelé fond pédogéochimique : concentration naturelle d'une substance dans un horizon de sol, résultant de l'évolution géologique et pédologique, à l'exclusion de tout apport d'origine anthropique (**Baize et Tercé, 2002**).

### **b. Origine anthropique**

Les intrants anthropiques sont principalement liés aux activités industrielles, comme l'exploitation minière, la fusion, la galvanoplastie, le rejet d'eaux usées et le dépôt aérien de fumées industrielles, ainsi qu'à l'agriculture, comme l'utilisation de déchets, d'engrais et l'érosion anthropique (**Fleming et al., 2013 ; Rinklebe et Shaheen, 2014**). Bien que les apports naturels d'ETM ne soient pas improbables, les activités anthropiques sont les principales causes de l'accumulation d'ETM (**Shaheen et al., 2017**), en particulier dans le voisinage géographique des activités industrielles polluantes (**Li et al., 2015**). Les préoccupations ont donc été soulevées à propos du devenir des ETM accumulés dans le sol, ce qui peut accroître le risque de lessivage des fractions mobiles des métaux lourds dans le sol, ce qui entraînerait la contamination des plans d'eau et des sédiments (**Rinklebe et Shaheen, 2014 ; Shaheen et al., 2017**). De plus, ces métaux lourds accumulés augmentent la possibilité de leur transfert dans la chaîne alimentaire au fil du temps (**Gall et al., 2015 ; Antoniadis et al., 2020**).

## **I.2 Le cuivre**

### **I.2.1 Généralité**

Le cuivre est un des rares métaux qui existe à l'état natif dans le sol. C'est pourquoi il est utilisé par l'homme depuis très longtemps, comme l'or et l'argent. Des objets fabriqués en cuivre ont été datés d'environ 8700 avant J.C. Le mot cuivre vient du latin *cuprum* signifiant « l'île de Chypre », qui était réputé pour ses mines de cuivre (**Navel, 2012**).

Le cuivre (Cu ; numéro atomique 29/poids atomique de 63.5/ densité de 8.96 g.cm<sup>3</sup>) est un oligo-élément essentiel à la présence de la vie sur terre, et indispensable au bon

fonctionnement de nombreuses fonctions physiologiques chez les plantes supérieures et les animaux. Il possède deux isotopes stables ( $^{63}\text{Cu}$  à 69,2% et  $^{65}\text{Cu}$  à 30,8%) et 27 radioisotopes qui n'existent pas à l'état naturel. Le milieu environnemental le plus exposé au cuivre est le sol (**Shabbir et al., 2020**).

Du fait de la grande conductivité du cuivre métallique, 60% de sa production entre dans la confection de câbles ou circuits électriques. 20% sont utilisés dans le bâtiment pour la plomberie et les toitures, 15% dans des machines industrielles comme les échangeurs thermiques, les 5% restant servant à la fabrication des alliages (**Emsley, 2003**).

Les principaux gisements de cuivre actuels sont au Chili, en Indonésie, aux Etats-Unis, en Australie et au Canada (80% de la quantité mondiale). Le cuivre s'y trouve généralement sous forme de sulfures (e.g. la chalcopirite  $\text{CuFeS}_2$  et la chalcocite  $\text{Cu}_2\text{S}$ ). La production mondiale de cuivre est de l'ordre de 20 Mt/an (**Henckens et Worrell, 2020**).

### **I.2.2 Source naturelle**

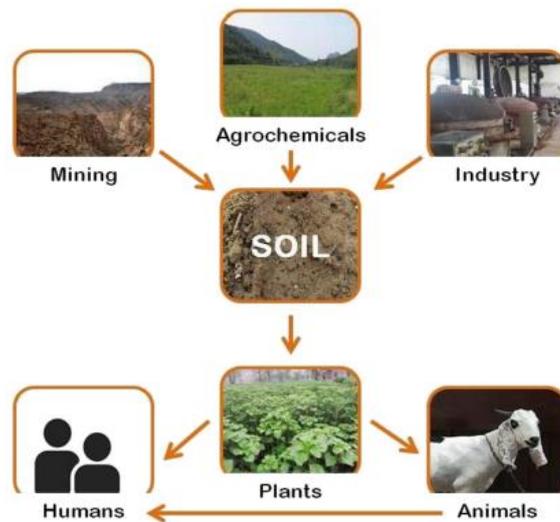
La teneur moyenne en cuivre de la croûte continentale est de  $35 \text{ mg kg}^{-1}$ , avec une variation entre 2 et  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  en fonction de nature de la roche (**Nagajyoti et al., 2010 ; Kabata-Pendias et Pendias, 2001**). Le cuivre est naturellement présent dans les roches et les sols : les sols développés sur des roches d'origine sédimentaire contiennent plus de cuivre que les sols développés sur des roches de type granites (**Fernández-Calviño et al., 2008**). Les minéraux cupriques viennent de la roche parentale soit se forment lors de processus pédologiques par substitution à d'autres cations métalliques ou par co-précipitation avec des carbonates magnésiens ou calciques, ou encore avec des oxydes de fer, de manganèse et d'aluminium. Ainsi, suivant la concentration initiale de la roche mère et en fonction des processus pédogéochimiques, le fond pédogéochimique en cuivre des sols va varier. (**Cetois et al., 2003**).

### **I.2.3 Source anthropique**

Les principales sources anthropiques comprennent les industries telles que le raffinage, la métallurgie, les engrais, la production de circuits imprimés, les fongicides, la fabrication de produits chimiques, les peintures, le drainage minier, les déchets agricoles, ainsi que les émissions du trafic (**Ameh et Sayes, 2019 ; Leygraf et al., 2019**).

L'activité humaine comme l'exploitation minière, la gestion des déchets industriels et municipaux, et le traitement de l'eau peut générer des accumulations localisées de cuivre et

augmenter la concentration de cuivre dans l'environnement (**Ferrante et al., 2013**). D'autre part, la demande de cuivre a augmenté au cours de la dernière décennie et continuera de croître en raison de la croissance démographique, des infrastructures développées et de l'application de technologies à forte intensité de cuivre. Une autre conséquence de ceci est l'apparition de graves pollutions environnementales et de dommages écologiques, y compris des pertes de biodiversité et de qualité de l'eau et du sol, autour des sites miniers (**Rehman et al., 2019a**).



**Figure 1** : Sources anthropiques du cuivre (**Rehman et al., 2019a**)

**I.2.4 Utilisation en agriculture**

Récemment, le cuivre a été rejeté en grande quantité dans l'écosystème par diverses activités agronomiques en raison de son utilisation agricole comme bactéricide, algicide et fongicide (**Shabbir et al., 2020**). Les fongicides à base de cuivre (comme la bouillie bordelaise) sont intensivement utilisés depuis la fin du XIXe siècle pour lutter contre les maladies fongiques de la vigne (**Epstein et Bassein, 2001**).

Les biocides contenant du Cu sont largement utilisés pour protéger les biodégradations causées par des champignons ou des insectes (**Guo et al., 2016**). Le cuivre est également un élément essentiel couramment utilisé dans les algicides et les pesticides tels que l'oxychlorure de cuivre, le sulfate de cuivre et les hydroxydes de cuivre. Le sulfate de cuivre est considéré comme la première substance chimique utilisée contre les maladies des plantes (**Gad El-Hak et Mobarak, 2019**).

Les engrais cupriques courants sont le sulfate de cuivre  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  et chélate de cuivre  $Na_2Cu-EDTA$ . Le sulfate de cuivre est l'engrais le plus ancien et le plus connu, il est utilisé soit sous forme solide pour l'application au sol, soit sous forme de solution diluée pour la

pulvérisation foliaire (**Mottaleb et al., 2021**). Les engrais à base d'oxyde métallique et de silicate peuvent également être utilisés pour traiter les sols carencés en cuivre. Ces substances doivent d'abord être solubilisées dans les sols, c'est-à-dire transformées en ions  $\text{Cu}^{2+}$ . (**Obrador et al., 2013**).

### **I.2.5 Concentration dans l'environnement**

Le cuivre n'existant pas à l'état gazeux dans les conditions physico-chimiques de la terre, il est forcément associé aux aérosols. Ces poussières peuvent être générées par l'activité volcanique, la dégradation de la matière organique (ex. feux de forêts), et les embruns marins, (**Oorts, 2013**). Le cuivre est libéré dans l'atmosphère en association avec des particules de matière sous forme d'oxyde, de sulfate, de carbonate ou adsorbé à la MO. Il s'élimine par dépôt gravitaire à sec et entraînement par les précipitations. Dans une zone contaminée, elle est grandement liée à la proximité de points d'émission (**Briefert et Perraud, 2001**). La concentration ubiquitaire de cuivre dans l'air est inférieure à  $10 \text{ ng.m}^{-3}$  (**OMS, 2004**).

Le cuivre peut s'infiltrer dans l'eau potable à partir de certains tuyaux et raccords en cuivre, en particulier lorsque l'eau est restée en contact avec ces matériaux de plomberie pendant de longues périodes (**Sruthi et al., 2018**). L'organisation mondiale de la santé (OMS) a indiqué que la valeur médiane de cuivre dans l'eau potable est de 1,5 mg/l avec une fourchette de 0,05 à 3 mg/L (**OMS, 2018**). L'agence de protection de l'environnement (EPA) indique que la valeur limite du cuivre dans l'eau est évaluée à la limite de 1,3 mg/l (**EPA, 2021**).

Le cuivre est fréquemment présent dans les ressources en eau et est considéré comme un polluant prioritaire (**Sruthi et al., 2018**). Selon l'OMS (**2004**), les niveaux de Cu dans les eaux de surface variaient de 0,0005 à 1 mg/l avec une valeur moyenne de 0,01 mg/l. Les eaux pluviales contiennent également environ 1 à 100  $\mu\text{g/l}$  en cuivre (**Georgopoulos, 2001**). Le niveau naturel de Cu dans un site témoin du bassin supérieur était de 0,001 mg/l (**OMS, 2004**).

Les niveaux de fond naturels de cuivre dans le sol variaient entre 14 et 109  $\text{mg.kg}^{-1}$  et la teneur moyenne en Cu dans le sol est de 38,9  $\text{mg kg}^{-1}$  (**Kabata-Pendias et Pendias, 2011**). La concentration moyenne de cuivre dans les sédiments est 50  $\text{mg.kg}^{-1}$  (**OMS, 2004 in Shabbir et al., 2020**)., elles varient typiquement de 16 à 5000 mg/kg dans les sédiments d'eaux douces et de 2 à 740 mg/kg dans les sédiments marins (**Ashworth et Alloway, 2007**).

Cet oligoélément n'est requis par les plantes qu'en très faible quantité et les teneurs adéquates de Cu dans les parties aériennes des plantes s'élèvent à 5-20 mg kg<sup>-1</sup> de matière sèche suivant le stade de développement et l'espèce considérés (Ballabio et al., 2018 ; Kabata-Pendias et Pendias, 2011). Au-delà du seuil de toxicité de 20-30 mg kg<sup>-1</sup> dans les parties aériennes, Cu peut être phytotoxique (Ballabio et al., 2018 ; Oorts, 2013 ; Marschner, 2011 ; Reeves et al., 2018).

**Tableau 1:** Concentrations de cuivre couramment observées (ppm) dans divers milieux environnementaux (Bradl, 2005)

Matériaux	moyenne	Plage de concentration
Roches ignées	125	80–200
Grès	30	6–46
Calcaire	6	0,6–13
Schiste et argile	35	23–67
Charbon	17	1–49
Cendres volantes	185	45–1452
Boues d'épuration	690	100–1000
Sols	38,9	2-250
Eau douce (Ag l <sup>-1</sup> )	3	0,2–30
Eau de mer (ig l <sup>-1</sup> )	0.25	0.05–12

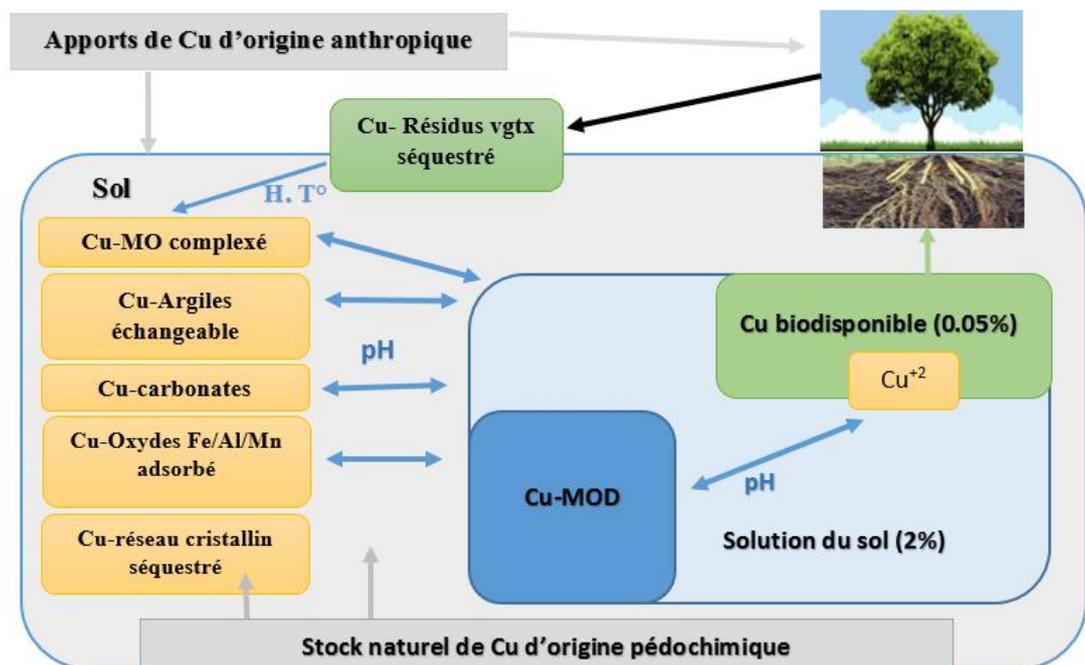
## I.2.6 Cuivre dans le sol

### I.2.6.1 Mobilité

Le cuivre s'adsorbe fortement sur les particules du sol, en plus d'avoir une faible mobilité, avec une rétention maximale à un pH neutre (Sacristán et Carbó, 2016). Le cuivre appliqué persiste habituellement dans la terre, s'accumulant dans les couches supérieures (≈15 cm) (Araújo et al., 2019). Son devenir et sa disponibilité dans les sols dépendent de nombreuses caractéristiques : type de sols (mobilité plus grande dans les sables que les argiles), pH (une acidité et une capacité élevée de réduction favorisent la libération des complexes d'oxydes), pouvoir d'échange cationique, teneur en eau, teneur en matières organiques et inorganiques, potentiel d'oxydoréduction (Eh), et présence d'oxydes (p. ex. oxyde de fer, de manganèse, d'aluminium) et d'argile (Anatole-Monnier, 2014 ; Meyssonier, 2016). Seulement une faible portion est sous forme d'ion libre hydraté ou échangeable, la majeure partie du Cu se présente dans les sols sous la forme résiduelle ou complexée à la matière organique (MO). (Kabata-Pendias et Pendias, 2001).

### I.2.6.2 Cuivre dans la phase solide

Dans la phase solide du sol, le cuivre se répartit entre plusieurs compartiments. Il peut être complexé à la matière organique, aux oxydes et hydroxydes de fer, de manganèse ou d'aluminium (Fig. 2) (Anatole-Monnier, 2014). Il peut aussi être sorbé sur les sites négatifs portés par les argiles, ou précipité notamment avec des carbonates, ou inclus dans des minéraux. Le cuivre sorbé sous toutes ces formes peut passer en solution sous l'influence de facteurs physico-chimiques du sol (Oorts, 2013).



**Figure 2:** Différentes formes de cuivre dans le sol en fonction des échanges entre les compartiments du sol (Anatole-Monnier, 2014) (MOD = matières organiques dissoutes, H=humidité)

#### a. Interaction du cuivre avec les argiles

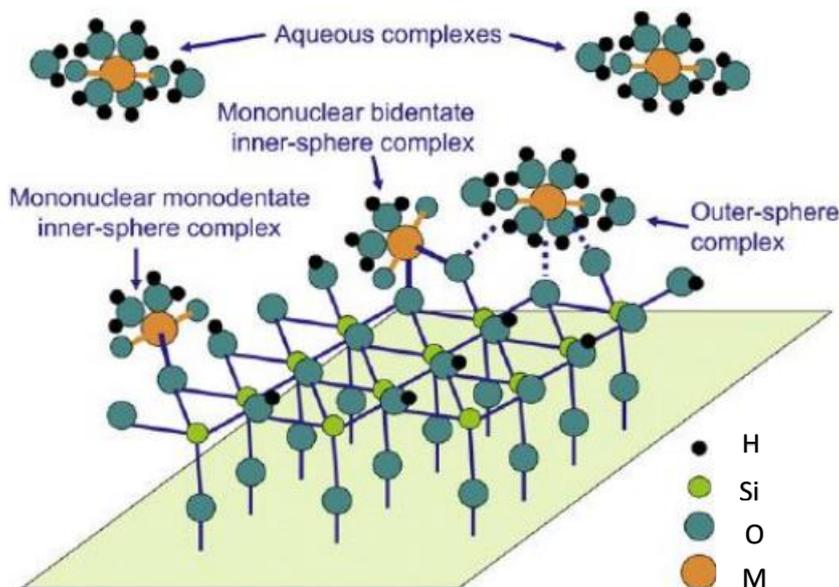
Par leur petite taille et leur structure en feuillets, les argiles jouent un rôle important dans la rétention des métaux (Nielsen *et al.*, 2015). Les argiles issues de l'altération des roches possèdent trois types de sites, fondamentalement différents, qui peuvent chacun interagir avec le cuivre (Navel, 2012) ;

➤ La structure en feuillet confère aux argiles la possibilité d'incorporer des charges positives (dont celle du cuivre) à l'intérieur des feuillets sous forme de complexes de sphère externe (Fig. 3). La capacité d'échange cationique des argiles dépend alors

essentiellement de cette configuration structurale. Elle s'exprime variablement selon la nature de l'argile en question (Lenoir, 2011).

➤ Les terminaisons des feuillets d'argiles constituent des sites de complexation de surface. Sur ces sites, le cuivre peut se lier sous forme de complexe de sphère interne. Grâce à ses propriétés chimiques, il peut donc être incorporé de façon préférentielle aux cations majeurs, moins réactifs à la complexation, tels que  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , ou bien sûr  $\text{Na}^{+}$  et  $\text{K}^{+}$ , qui n'ont aucun pouvoir complexant (Tournassat et al., 2004).

➤ Les feuillets des argiles sont constitués d'un réseau formé en partie par des cations  $\text{Al}^{3+}$  qui peuvent être substitués contre des cations bivalents ou trivalents différents, parmi lesquels le cuivre (Manceau et al., 2002).



**Figure 3:** Complexes de sphère interne et de sphère externe à la surface d'une silice. (M : Métal) (Payne et al., 2013)

### b. Interaction avec la MO

De nombreuses études se sont intéressées à la réactivité de la matière organique avec les métaux dans les sols. L'ensemble de ces études ont montré une rétention importante des métaux par les matières organiques. Le cuivre présente la particularité d'être majoritairement présent dans la phase solide sous des formes liées à de la matière organique, comme dans le cas des solutions du sol (Arias et al., 2005 ; Khan et al., 2005). L'adsorption sur les différents groupements fonctionnels des matières organiques se fait généralement en faveur des groupements carboxylique et phénolique. S'il peut être en compétition avec d'autres cations pour ces groupements, le cuivre présente la meilleure affinité dans les sols acides. A pH 5, le

classement par affinité des métaux divalents vis-à-vis des matières organiques donne :  $\text{Cu}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$  (**Bravin, 2008**).

### **c. Interaction avec les oxydes et hydroxydes métalliques**

Comparativement aux argiles, le cuivre présente une affinité plus importante pour les oxyhydroxydes de Fe, Al et Mn sur lesquels il est retenus principalement par des phénomènes d'adsorption spécifique, i.e. par la formation de complexes en sphère interne impliquant la formation de liaisons covalentes et/ou de coordination de plus forte énergie (**Spadini et al., 2003 ; Sauvé et al., 1997**). Le cuivre présente une affinité particulièrement forte pour les oxyhydroxydes comme le montrent ces séries d'affinités (**McKenzie, 1980**) :

- Oxyhydroxydes Fe amorphes       $\text{Pb}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$
- Oxyhydroxydes Al                       $\text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$
- Oxyhydroxydes Mn                       $\text{Pb}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Ni}^{2+}$

Les oxydes de Mn présents dans les sols ont généralement des réactivités au moins similaires, voire supérieures à celles des oxydes de Fer, à cause de la formation de structures lamellaires. Toutefois, les oxydes de Mn sont généralement bien moins abondants que les oxydes de Fer (**Navel, 2012**).

#### **I.2.6.3 Cuivre dans la solution du sol**

La fraction de cuivre présente dans la solution du sol est faible, de l'ordre de 1 à 2% de la teneur en cuivre totale du sol (**Sauvé et al., 1997, Agbenin et Felix-Henningsen, 2004**). Dans la solution du sol, on trouve le cuivre sous les formes suivantes :

- le cuivre chélaté à la matière organique dissoute tels que les acides aliphatiques, les acides aminés, les acides phénoliques, les peptides, les protéines, les polysaccharides ou les acides humiques et fulviques (**Kabata Pendias et Pendias, 2011**)
- le cuivre complexé à des ligands inorganiques comme  $\text{OH}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{S}^{2-}$  (**McBride, 1981**)
- le cuivre sous forme ionique libre :  $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ .

La liaison à des ligands inorganiques est moins stable que celle à des ligands organiques. De part leur forte affinité avec le cuivre, les complexes organiques dominent donc la spéciation du cuivre dans la solution du sol (**Ma et al., 2006**). Dans la solution du sol, le cuivre est donc

le plus souvent complexé à de la matière organique dissoute (Cu-MOD) mais on le trouve également sous sa forme libre  $\text{Cu}^{2+}$  (Sauvé et al., 1997).

#### **I.2.6.4 Pollution des sols par le cuivre**

La contamination des sols par les métaux lourds devient une menace mondiale en raison de ses impacts négatifs sur la sécurité environnementale (Wang et al., 2018). Les activités anthropiques en particulier l'application de produits agrochimiques sont les principales sources d'accumulation de cuivre dans le sol (Gallego et al., 2012). Habituellement, les produits agrochimiques à base de cuivre, tels que les engrais et les produits phytosanitaires destinés à améliorer le rendement des cultures et à lutter contre les maladies des plantes, sont les principales sources de dépôt de cuivre dans les sols, en raison de leur utilisation étendue dans les pratiques agricoles (Husak, 2015). Luo et al., (2009) ont signalé que l'apport annuel de Cu sous forme de produits agrochimiques peut dépasser 5000 tonnes (Oorts, 2013). L'utilisation intensive de Cu dans l'alimentation animale augmente le dépôt de Cu dans les sols en utilisant les fumiers de ces animaux, pendant la production végétale (Rehman et al., 2019a). Xiong et al.,(2010) ont constaté que la concentration de Cu dans les fumiers des animaux atteignait jusqu'à 2016 mg  $\text{kg}^{-1}$ . Ce polluant métallique ne peut pas être dégradé biologiquement ou chimiquement ; par conséquent, ils constituent de graves menaces pour l'environnement écologique, la sécurité alimentaire et la santé humaine (Olawoyin et al., 2012).

##### **a. Action du cuivre sur le sol**

Le niveau élevé de Cu dans le sol est connu pour être toxique pour les micro-organismes, perturbant le cycle des nutriments et inhibant la minéralisation des nutriments essentiels comme l'azote (N) et le phosphore (P). Les microorganismes du sol (y compris ceux qui assurent la nitrification) sont également sensibles à la toxicité du cuivre dans le sol (Cheng et al., 2014). L'excès de cuivre entrave diverses activités enzymatiques du sol comme les phosphatases alcalines et acides, la nitrate réductase, l'uréase et la cellulase, polyphénol oxydase et peroxydase (Yang et al., 2021 ; Cao et al., 2020 ; Kuziemska et al., 2020 ; Bartkowiak et al., 2020 ; Wyszowska et al., 2017). Akinnifesi et al. (2006) ont signalé que l'augmentation de la teneur en Cu du sol réduisait la quantité de phosphore disponible pour les plantes. De même, certains micronutriments sont également affectés, tels que les teneurs en Zn, Mn et Fe (Savithri et al., 2003).

**I.2.7 Cuivre dans la plante****I.2.7.1 Absorption du cuivre**

Les plantes absorbent les ions métalliques de la matrice du sol au niveau de l'épiderme et du cortex racinaire, puis les transferts vers divers organes (tissus et organites) par le parenchyme, l'endoderme et le xylème (**Kumar et al., 2020**). Cependant, l'absorption de Cu dans les cellules racinaires peut se faire par transport passif (non métabolique) et / ou actif (métabolique) à travers différents transporteurs tels que CTR (transporteur de cuivre) et COPT1 (protéine de transport de cuivre) ou co-transporteurs (**Sancenon et al., 2004 ; Kumar et al., 2020**).

L'expression des protéines COPT/Ctr dépend de la disponibilité du cation Cu dans la rhizosphère, du stade de croissance et des conditions environnementales locales, ce qui montre que l'absorption du Cu est régulée par le développement et l'environnement (**Yuan et al. 2011**). Parmi plusieurs protéines, COPT1 est la plus nécessaire pour l'acquisition de Cu du sol. La COPT1 est un transporteur de Cu(I) de haute affinité situé principalement à l'extrémité de la racine (**Mir et al., 2021**).

**I.2.7.2 Transport du cuivre vers la partie aérienne**

Une fois incorporés dans les racines, le cuivre est chargé dans le xylème pour permettre leur transport jusqu'aux parties aériennes de la plante (**Boutigny, 2009**).

**a. Rôle de transporteur ATPase**

Les ions cuivre absorbés par les racines des plantes peuvent être transférés sous forme de Cu (I) ou Cu (II), mais généralement sous forme de Cu-complexes (**Lange et al., 2017**). Les vaisseaux du xylème permettent le transfert de cuivre absorbé par les racines vers la partie aérienne. Le tissu de xylème responsable de cette action est étudié chez des mutants d'*Oryza sativa* dont le transporteur ATPase OsHMA5 de type P<sub>1B</sub> a montré une meilleure translocation du cuivre des racines aux pousses (**Deng et al., 2013**). La ré-oxydation du Cu (I) en Cu (II) a été observée lors d'un transfert aérien, car Cu (II) forme de meilleurs complexes favorables aux transporteurs longue distance (**Ryan et al., 2013**).

**b. Rôle de transporteur NA**

Nicotianamine (NA) est un acide aminé synthétisé par les NA synthases (NAS), il joue également un rôle essentiel dans la translocation des minéraux (**Hofmann, 2012**). Le NA a la

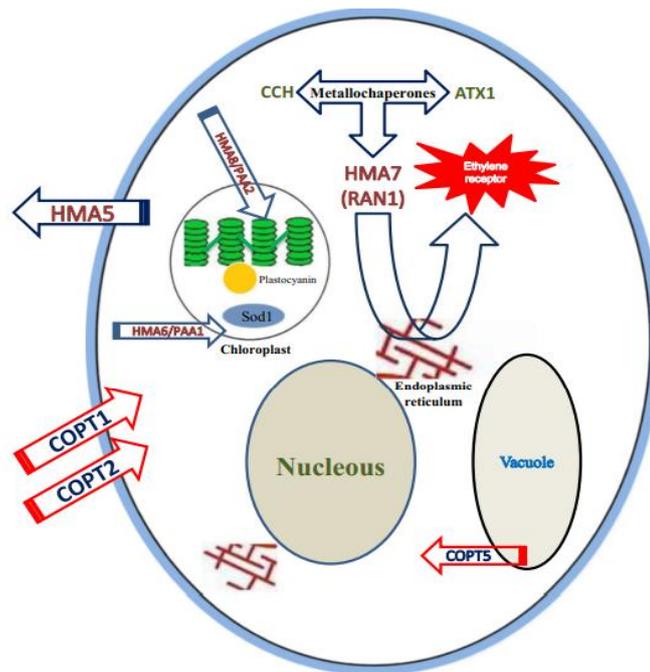
capacité de se lier à divers types de métaux de transition (Mn, Fe, Co, Zn, Ni et Cu) dans les vaisseaux du xylème. Le NA et l'histone ont montré une affinité maximale pour se lier au cuivre, ce qui définit leur rôle dans le transfert de cuivre lors de la translocation à longue distance (**Tamez et al., 2019**). Divers transporteurs comme l'ATPase de type P, le ZIP, le NRAMP et le COPT sont impliqués dans le transport du cuivre (**Kumar et al., 2020**).

### **I.2.7.3 Homéostasie du cuivre dans la cellule végétale**

Une fois transportés dans les différents tissus, le cuivre doit être correctement distribué dans l'ensemble des compartiments subcellulaires et à des concentrations non toxiques pour la cellule. Ceci peut se faire grâce à la présence de transporteurs spécifiques et de molécules ou protéines qui vont prendre en charge ce métal (**Boutigny, 2009**).

### **I.2.7.4 Distribution intracellulaire du cuivre**

Une fois dans le cytosol, le cuivre est chélaté par des phytochélatines et des métallothionines (**Cobbett, 2002**) ou pris en charge par des métallo-chaperonnes (**Matson Dzebo et al., 2018**). Les métallo-chaperonnes permettent d'acheminer le métal à une protéine cible spécifique via des interactions protéine-protéine. Ces métallo-chaperonnes permettraient aussi d'augmenter la capacité de la cellule à chélater les ions (**Fukuoka et al., 2017**). Trois types de métallochaperonnes de cuivre ont été décrits : Cos17, Ccs1 et Atx1 qui interagissent respectivement avec un cytochrome oxydase, une SOD Cu/Zn et une ATPase de type P nommée Ccc2 (**Del Pozo et al., 2010**). Deux protéines homologues à Atx1 ont été identifiées chez *Arabidopsis* : CCH et ATX1 qui interagiraient avec les ATPases HMA7 et HMA5 (**Andrés-Colás et al., 2006**).



**Figure 4:** Diagramme hypothétique représentant la distribution des transporteurs de Cu localisés dans les plantes (homéostasie du Cu). Les transporteurs de la famille COPT sont représentés en bleu et les transporteurs de la famille HMA en rouge. Les flèches indiquent la direction suggérée du transport du Cu (Festa et Thiele, 2011 in Rehman et al., 2019a)

#### I.2.7.5 Rôle du cuivre dans la plante

Le cuivre est un micronutriment essentiel avec une très faible concentration dans les tissus biologiques. Un niveau optimal de Cu est nécessaire pour une croissance et un développement normaux des plantes en raison de son implication dans de nombreux processus biologiques des végétaux (Adress et al., 2015). En tant que cofacteur de la protéine, il est nécessaire au fonctionnement normal de plus de 30 enzymes, dont la plupart catalysent des réactions d'oxydoréduction (Yruela, 2009). Il joue un rôle important dans la photosynthèse. En effet, environ la moitié de la concentration totale de cuivre déposée est présente dans le chloroplaste, où elle est principalement associée aux protéines impliquées dans la chaîne de transport des électrons, comme la plastocyanine (Hänsch et Mendel 2009). Il a une fonction capitale dans la mobilisation du fer, le métabolisme des protéines, le métabolisme de la paroi cellulaire, la respiration mitochondriale et la signalisation hormonale (Ameh et Sayes, 2019).

**Tableau 2:** Protéines associées au cuivre et leurs fonctions chez les plantes (**Rather et al., 2020**)

Type	Protéine	Fonction
Surface cellulaire/compartiment sécrétoire Transporteurs et récepteurs	• PIB-Type ATPases	Protéines concernées par l'exportation de Cu
	• Ctr (copper transporter)	Protéines impliquées dans l'importation de Cu
	• Ethylene receptor	Agit comme un cofacteur et active la signalisation de l'éthylène
Transfert d'électrons/protéines Blue Cu	• Cytochrome c oxydase	Joue un rôle important dans la dernière étape de la respiration
	• Plastocyanine	Transfert d'électrons pendant la photosynthèse
L'élimination des radicaux libres	Cu/Zn SOD	Piégeur de radicaux libres
Oxydase	• Laccase	Désamination oxydative des polyamines
	• Ascorbate oxidase	Régule l'état redox de la cellule
	• Amine oxidase	Participe à la maturation des parois cellulaires, à la lignification, oxyde les diamines.
	• Polyphenol oxidase	Joue un rôle important dans les mécanismes de défense contre les ravageurs et les agents pathogènes
Régulateurs transcriptionnels	SpL7	Activateur transcriptionnel qui s'active en réponse à des niveaux de Cu réduits
Chaperons/Stockage	• Atx1 (protéine antioxydante 1)	Un chaperon métallique transportant Cu aux ATPases de type P
	• Ccs (Cu chaperon pour la superoxyde dismutase)	Transporte Cu vers Cu/Zn SOD1

### a. Rôle dans l'oxydo-réduction

À l'intérieur des plantes, le Cu persiste principalement dans deux états d'oxydation,  $\text{Cu}^+$  (l'état réduit) et  $\text{Cu}^{+2}$  (l'état oxydé) (**Ogunkunle et al., 2019**). Le cuivre se lie à différents molécules à l'intérieur des plantes en fonction de son état d'oxydation. Par exemple,  $\text{Cu}^+$  se coordonne généralement avec des composés contenant du soufre, tandis que  $\text{Cu}^{+2}$  se lie de préférence avec des groupes azote ou oxygène imidazole (**Whitby et al., 2018**). En raison de son double état oxydatif, le Cu peut établir des liaisons avec un certain nombre de biomolécules telles que les protéines (**Ghazaryan et al., 2019**).

**b. Production des ROS**

le cuivre intervient dans la production des ROS par réaction de Fenton en raison de sa nature redox-active (**Zhang et al., 2020**). Lors des réactions en chaîne de ces réactions biochimiques, des ROS sont générés naturellement, jusqu'à ce que les réactions soient arrêtées par un ou plusieurs antioxydants. Cette fonction du Cu peut jouer un double rôle chez les plantes : positive lorsque le niveau des ROS à l'état d'équilibre est maintenu dans le métabolisme des plantes et négative lorsque la surproduction des ROS peut provoquer un stress oxydatif sur des composants cellulaires essentiels tels que l'ADN, les protéines et les lipides (**Manzl et al., 2004**).

**c. Transport d'électrons**

Le rôle le plus essentiel du Cu dans les plantes est le transport d'électrons dans le chloroplaste et les mitochondries (**Aguirre et Pilon, 2016**). En absence de cuivre, les plastocyanines ne sont pas fonctionnelles et la chaîne de transfert d'électrons photosynthétique ne peut plus fonctionner, ce qui est létal pour la plante (**Boutigny, 2009**).

**d. Production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

La nature redox du cuivre est également considérée comme bénéfique pour les plantes jusqu'à des niveaux supra optimaux. En raison de sa nature redox, le cuivre améliore la génération de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peroxyde d'hydrogène), qui est une molécule de signalisation pour divers processus et peut moduler la croissance et le développement des plantes (**Nazir et al., 2019**). De plus, il a été rapporté que le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est lié à diverses réglementations de la croissance et du développement des plantes telles que l'activation de la résistance/tolérance des plantes aux conditions de stress (**Zhou et al., 2018**).

**I.2.7.6 Carence du cuivre**

Les plantes cultivées sous carence en cuivre ont montré une altération de la chaîne de transport photosynthétique, qui est principalement due à l'inhibition de la fonction de la plastocyanine (**Abdel-Ghany et Pilon, 2008**). Les plantes présentent des symptômes chlorotiques, un retard de croissance, une diminution du taux de croissance, un enroulement des marges des feuilles, une chlorose des jeunes feuilles, une diminution de la formation des fruits, un dépérissement des tiges et les activités des enzymes deviennent inactives (**Thomas et al., 2016 ; Shabbir et al., 2020**). Une carence en cuivre entraîne également des variations dans

la régulation d'un certain nombre de gènes qui contrôlent le fonctionnement de différents processus (Thomas et al., 2016).

### **I.2.8 Transfert sol-plante du cuivre**

#### **I.2.8.1 Biodisponibilité**

La biodisponibilité est l'aptitude d'un élément à être transféré d'un compartiment du sol vers un organisme vivant (bactérie, végétal, animal, homme). Lorsque l'organisme vivant est une plante, on parle de phyto-disponibilité (Baize, 1997). Les plantes ne sont pas en mesure d'accéder entièrement à la masse totale de métaux présents dans le sol (Violante et al., 2010). La phytodisponibilité de cuivre a souvent été reliée au pH de la solution du sol et à sa spéciation physique et chimique dans la solution du sol (Muyumba et al., 2018).

L'évaluation de la phyto-disponibilité des métaux pour les plantes, peut être utilisée pour prévenir (i) de leur accumulation possible dans les organes consommés des plantes pouvant induire des risques pour la santé humaine et (ii) d'une éventuelle toxicité de ces éléments, cela pouvant entraîner une baisse de rendements agricoles (Adrees et al., 2015).

#### **I.2.8.2 Facteurs influençant la biodisponibilité du cuivre**

##### **a. pH du sol**

Divers facteurs et processus du sol contrôlent la sorption / la précipitation / la désorption des métaux dans le sol (Sharma et al., 2009). Plusieurs études ont montré que, le pH du sol a un effet plus important sur la mobilité et la phytodisponibilité des métaux dans le sol par rapport à d'autres facteurs du sol (Morel et al., 2014; Sacristán et Carbó, 2016 ; Qu et al., 2018). Dans le sol, la stabilité du cuivre dépend fortement du pH et sa mobilité augmente avec la diminution du pH du sol (Draszawka-Bolzan, 2017).

##### **b. Matière organique**

Outre le pH du sol, la teneur en matière organique du sol (MO) joue un rôle très important dans la mobilité et la disponibilité des métaux lourds dans le sol, y compris le Cu (Laurent et al., 2020). La matière organique est associée à la capacité du sol à retenir le Cu et d'autres métaux dans le sol (Shahid et al., 2014a). Elle enrichit également la solution du sol avec des produits chimiques qui chélatent et améliorent la phyto-disponibilité des métaux. Il est

bien connu que l'adsorption de Cu sur les particules du sol est élevée dans les sols à forte teneur en MO (Antoniadis *et al.*, 2008).

Dans le sol, la MO forme des complexes très forts avec le Cu. Par conséquent, le complexe Cu-MO est généralement la forme la plus prédominante de cuivre dans les sols à forte teneur en MO (Araújo *et al.*, 2019). Certaines études ont rapporté qu'environ 90 % du Cu total du sol était trouvé sous forme de Cu-OM, selon la concentration de Cu dans le sol (Rutkowska *et al.*, 2013 ; Conde-Cid *et al.*, 2019).

### **c. Activités racinaires**

Les activités racinaires peuvent modifier les propriétés chimiques du sol (pH, concentrations ioniques, potentiel rédox, teneur en COD) et mobiliser des éléments en traces métalliques à partir de la phase solide du sol et ainsi modifier leur biodisponibilité (Hinsinger *et Courchesne*, 2008). Les modifications de pH induites dans la rhizosphère peuvent avoir plusieurs origines :

- Le déséquilibre des charges traversant la membrane plasmique en lien avec le bilan des cations/anions absorbés par les cellules racinaires,
- La libération d'anions organiques,
- La respiration racinaire et le couplage avec des processus rédox (Hinsinger *et al.*, 2003).

En modifiant le pH de la rhizosphère, les plantes peuvent modifier la spéciation et donc la biodisponibilité de Cu puisque le pH est impliqué dans de nombreuses réactions chimiques du sol (dissolution/précipitation, adsorption/désorption, complexation) (Chaignon, 2001 ; Hinsinger *et Courchesne*, 2008).

### **d. Activités microbiennes**

Comme les activités racinaires, les activités microbiennes stimulées dans la rhizosphère via l'exsudation racinaire de composés organiques et la rhizodéposition peuvent agir sur la spéciation des éléments métalliques (Cu, Fe et Zn) et par conséquent sur leur biodisponibilité (Jones *et al.*, 2009). Les activités microbiennes sont à l'origine de la modification de propriétés chimiques du sol comme le pH, le potentiel rédox et la concentration de ligands organiques. La production d'acides organiques, d'enzymes et d'acides aminés peut favoriser la mobilisation d'ions métalliques par hydrolyse enzymatique, protonation et complexation (acidolyse, acido-complexolyse et complexolyse) à partir de la phase solide. La

dégradation microbienne de ligands organiques complexant des métaux comme Cu peut également augmenter la concentration en solution et donc la disponibilité des métaux initialement complexés (**Bourrelier et Berthelin, 1998**).

### **I.2.8.3 Mobilisation de cuivre dans la rhizosphère**

Dans un premier temps, la plante doit rendre mobilisables les métaux présents dans le sol. En effet, les métaux peuvent être inaccessibles car ils sont souvent sous forme insolubles. Le cuivre est insoluble dans le sol à cause de leur adsorption sur l'argile, le calcaire ou la matière organique (**Palmer et Guerinot, 2009**). L'insolubilité est d'autant plus importante pour les sols alcalins. Pour s'affranchir de ce problème, les plantes ont développé une stratégie consistant à acidifier le sol pour rendre ces métaux accessibles. Ceci est réalisé grâce à une ATPase à protons (de la famille des AHA, *Arabidopsis* H<sup>+</sup> ATPase) qui exporte des protons dans la rhizosphère entraînant une diminution locale du pH (**Boutigny, 2009**).

### **I.2.9 Toxicité du cuivre**

Les cultures agricoles sont soumises à stress abiotiques drastiques dans les terres cultivées comme la sécheresse, la salinité et les métaux lourds. La toxicité du cuivre est un problème défavorable important dans les cultures vivrières et les plantes d'importance économique (**Wuana et Okieimen, 2011**). Une concentration plus élevée de Cu est toxique pour les plantes, causant des effets négatifs importants allant des niveaux morphologiques et physiologiques aux niveaux moléculaires et sont évidents à tous les stades de croissance des plantes (**Adrees et al., 2015**). La toxicité du cuivre dans les plantes est une contrainte considérable qui non seulement réduit la croissance des plantes mais dégrade également la qualité des aliments (**Wuana et Okieimen, 2011**).

#### **I.2.9.1 Bioaccumulation**

L'accumulation de cuivre dans les tissus végétaux dépend de la teneur en cuivre du sol et du stade de croissance de la plante. Les effets de la toxicité du Cu sont principalement la croissance et la morphologie des racines, car le Cu a tendance à être fortement absorbé par les racines des plantes et n'est pas facilement transporté vers les parties aériennes des plantes (**Rehman et al., 2019a**). **Pedersen et al., (2000)** ont signalé que la translocation du Cu vers les parties aériennes de la plante est efficacement limitée par la forte accumulation de Cu dans les racines. Plusieurs recherches sur *Triticum aestivum* (**Mahmud et al., 2013**), *Trigonella foenum-*

*graecum* (Elleuch et al., 2013), *Phyllostachys pubescens* (Chen et al., 2015), *Eclipta alba* (Chandrasekhar et Ray, 2017), et *Boehmeria nivea* L. (Rehman et al., 2019b) indiquent que le cuivre a une tendance à s'accumuler dans les tissus racinaires avec peu de mouvement ascendant vers les pousses. Gharbi et al. (2005) ont montré que dans la laitue, l'accumulation de Cu était plus élevée dans les racines que dans les pousses, (60 à 80 % du Cu total de la plante est accumulée dans les racines). Cependant, dans les épinards, il n'y avait pas de différence significative dans la teneur en Cu entre les racines et les parties aériennes.

### **I.2.9.2 Toxicité du cuivre pour les racines des plantes**

La toxicité du cuivre survient d'abord dans les racines puis affecte divers processus physiologiques dans les parties aériennes (Cambrollé et al., 2013a). Des niveaux élevés de Cu dans le sol peuvent restreindre et endommager la croissance des racines, entraînant ainsi une diminution de l'absorption des nutriments et de l'eau par les racines (Sheldon et Menzies, 2005 ;Kopittke et al., 2011). La diminution de la croissance des racines est généralement associée à la déchirure et à la rupture de l'épiderme racinaire et du cortex externe (Kopittke et al., 2011a). La toxicité du cuivre provoque un retard de croissance des racines, qui comprend un plus petit nombre de ramifications, une coloration sombre, un développement médiocre et un épaississement moindre (Marques et al., 2019).L'excès de cuivre entraîne également une surproduction d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ce qui va les rigidifier et gêner la croissance des cellules (Lin et al., 2013). La croissance des racines est plus gravement affectée par l'augmentation de Cu que celle des pousses, ce qui est évident en raison de la rétention de la majeure partie du Cu absorbé par les plantes (Rather et al., 2020).

### **I.2.9.3 Effet du cuivre sur la croissance des plantes**

Une accumulation excessive de Cu affecte la croissance et le métabolisme des plantes (Baldi et al., 2018a; Gong et al., 2019; Jaime-Pérez et al., 2019; Marques et al., 2019). Le stress du cuivre a une interférence significative avec la croissance des plantes directement et indirectement. Certaines études antérieures ont rapporté une inhibition de la croissance des plantes sous l'effet de stress en cuivre (Jaime-Pérez et al., 2019; Marques et al., 2019). La diminution de la croissance causée par le cuivre est bien connue pour différentes espèces végétales : *Brassica napus* (Mwamba et al., 2016), *Zostera muelleri* (Buapet et al., 2018), *Phaseolus vulgaris* (Bouazizia et al., 2010).

**I.2.9.4 Toxicité du cuivre sur la morphologie des plantes**

L'exposition au stress au Cu entraîne un remodelage de la morphologie des racines (Cai et al., 2014), puisque la racine est le premier organe à entrer en contact avec le contaminant. L'utilisation d'images numériques des racines est un paramètre important pour l'analyse du développement des racines. Toutefois, il convient de mentionner qu'il existe peu d'études sur la morphologie des racines des espèces indigènes et que cela se produit souvent en raison de la difficulté à analyser cet organe souterrain (Shabbir et al., 2020). Il a également été signalé que le stress au Cu diminue la surface et l'expansion des feuilles, ainsi que la taille de la tige chez plusieurs plantes (Barbosa et al., 2013 ; Feigl et al., 2013).

**I.2.9.5 Toxicité du cuivre sur la physiologie des plantes****a. Toxicité sur la photosynthèse**

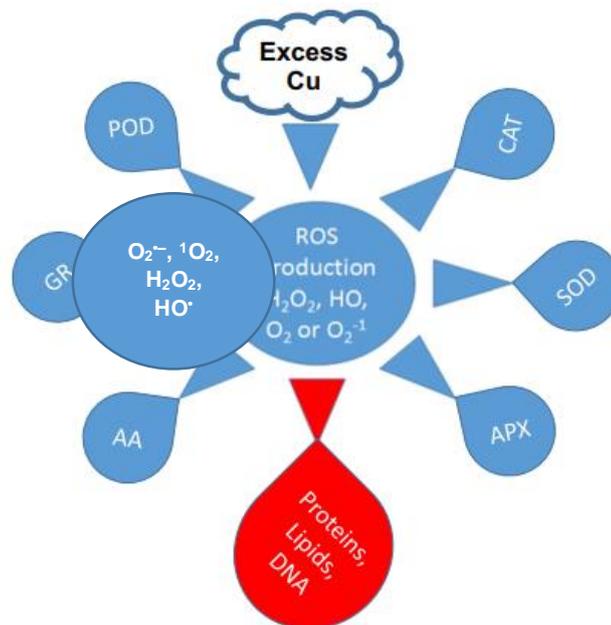
Un excès de cuivre affecte négativement la teneur en pigments des végétaux et finalement le processus de la photosynthèse (Adrees et al., 2015). Certaines études ont montré que la réduction de la teneur en pigments et la limitation de la photosynthèse fait partie des principaux effets de la toxicité du Cu (Jaime-Pérez et al., 2019 ; Lwalaba et al., 2019). Le Cu entrave la synthèse des appareils photosynthétiques en affectant la composition des pigments et les protéines de la membrane photosynthétique (Bazihizina et al., 2015 ; Silva et al., 2018).

L'exposition des plantes à des niveaux élevés de Cu peut affecter les facteurs liés à la photosynthèse des plantes tels que l'efficacité PSII, la diffusion du dioxyde de carbone, le transport d'électrons (Gong et al., 2019) et la photorespiration (Marcec et al., 2019; Ryszka et al., 2019). Le cuivre peut également induire une toxicité pour la photosynthèse en augmentant la génération de ROS (Gong et al., 2019). En fait, il a été démontré que les ROS affectent le flux d'électrons dans l'ETC photosynthétique, et par conséquent affectent le processus de la photosynthèse (Shahid et al., 2014b). Par exemple, la sur-génération de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> affecte la synthèse de la protéine PSII et par conséquent détruit la membrane chloroplastique (Gomes et al., 2014).

**b. Production d'espèces réactives dérivées de l'oxygène (ROS)**

L'exposition à certaines pollutions environnementales provoque chez les organismes photosynthétiques une surproduction d'espèces réactives dérivées de l'oxygène (ROS), à l'origine d'un stress oxydatif pouvant entraîner leur mort (Natasha et al., 2018; Shahid et al., 2020a). Le cuivre est associé à la production des ROS dans les plantes via différentes réactions :

la réaction de Fenton (Ameh et Sayes, 2019 ; Marcec et al., 2019) ou la réaction Haber-Weiss (Kapoor et al., 2019; Nieves-Cordones et al., 2019). L'augmentation de la génération des ROS entraîne des dommages oxydatifs à diverses macro-molécules essentielles telles que les protéines, l'ADN et les lipides (Srinivas et al., 2018). Ces interactions de ROS avec les biomolécules conduisent finalement à l'endommagement de divers organites cellulaires (Shahid, 2017).



**Figure 5:** Production des ROS ( $H_2O_2$ ,  $HO\cdot$ ,  $1O_2$ ,  $O_2\cdot-$ ) et les antioxydants (CAT, SOD, APX, AA, GR, POD) après l'exposition à un excès de cuivre. (Adrees et al., 2015).

### c. Altérations de la structure des protéines

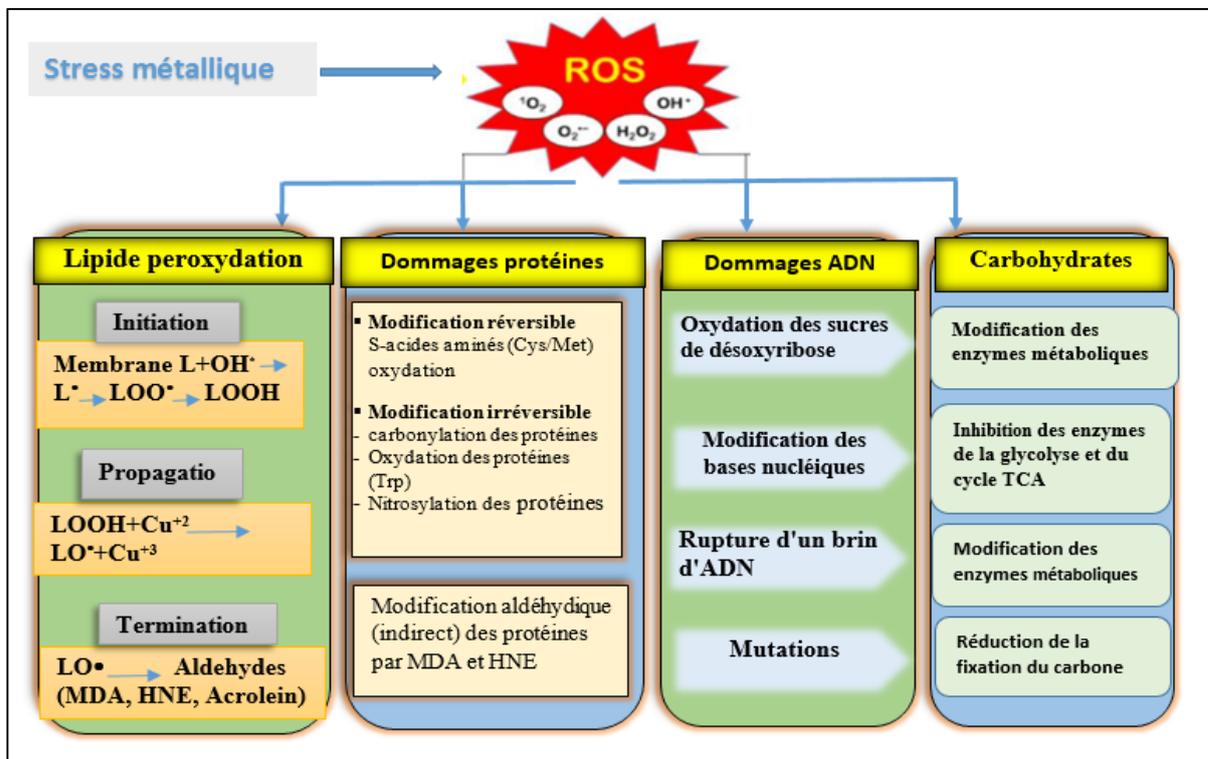
Les protéines sont particulièrement sensibles à l'action des ROS. Plusieurs mécanismes directs ou indirects de modifications sont connus (Srinivas et al., 2018). Les protéines les plus touchées sont celles comportant un groupement sulphydryle (-SH), comme c'est le cas pour de nombreuses enzymes et protéines de transport (Stadtman et Levine, 2000). Le peroxyde d'hydrogène, mais surtout le radical hydroxyle sont capables d'oxyder ces groupements, conduisant à l'inactivation de certaines enzymes. En particulier, la présence de radicaux hydroxyles est à l'origine de dégradations irréversibles des protéines, par la formation de groupements carbonyles sur la chaîne latérale de certains acides aminés. Ainsi, l'histidine, l'arginine, la lysine ou encore la proline sont des cibles privilégiées de ce processus d'altération oxydative (Stadtman et Levine, 2000 ; Hasanuzzaman et al., 2020).

Les espèces réactives de l'oxygène altèrent la liaison covalente et induisent l'oxydation des protéines. Tout acide aminé protéinogène peut être oxydé par les ROS, altérant ainsi les

activités métaboliques, structurelles, de transport ou de régulation des protéines. Comme effet secondaire, certains produits de la peroxydation lipidique comme l'hydroxynonéal et le MDA peuvent réagir avec les protéines en modifiant l'arginine (Arg), la lysine (Lys), la proline (Pro), la thréonine (Thr) et le tryptophane (Trp) et entraîner une dégradation protéolytique (Hasanuzzaman et al., 2020).

**d. Peroxydation lipidique**

Les lipides sont considérés comme des composants cellulaires de grands importances, en raison de leur rôle clé dans plusieurs processus biochimiques. Tels que, le maintien de l'intégrité et de la composition des organites cellulaire, la construction des membranes cellulaires et la production d'énergie pour les métabolismes cellulaires (Degournay, 2018). Cependant, des niveaux élevés de ROS dans la cellule sont capables d'endommager la totalité des macromolécules cellulaires. Provoquent ainsi, l'initiation du processus de peroxydation lipidique (Yalcinkaya et al., 2019). La peroxydation lipidique est le résultat d'une surproduction de ROS induite par le cuivre. Elle est considérée comme un indicateur du stress oxydatif chez les plantes (Kapoor et al., 2019).



**Figure 6:** Dommages cellulaires causés par les espèces réactives de l'oxygène dans les plantes. (L $^{\cdot}$  : Radical libre lipidique ; LOO $^{\cdot}$  : radical peroxyde lipidique ; LOOH : hydroperoxyde lipidique ; LO $^{\cdot}$  : radical alcoxyle lipidique). (MDA : malondialdéhyde ; HNE : 4-hydroxy-2-nonanal) (TCA : cycle de Krebs). (Hasanuzzaman et al., 2020)

### **I.2.10 Homéostasie du cuivre**

Tous les organismes vivants, y compris les plantes, sont dotés d'une défense cellulaire intrinsèque pour combattre et tolérer le stress oxydatif (**Buapet et al., 2019**). L'homéostasie du cuivre, qui élucide la capacité des plantes à réguler des niveaux déficients et toxiques, est principalement mise en évidence par l'induction de gènes spécifiques ainsi que par des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (**Navarrete et al., 2019**).

Afin de maintenir un niveau optimal de Cu dans différents tissus végétaux et de contrôler la production de ROS, un certain nombre de gènes et de protéines de transport travaillent ensemble à l'intérieur des tissus végétaux. Le rôle de ces gènes et protéines de transport est de contrôler le mouvement du Cu à l'intérieur des plantes (**Grønberg et al., 2016; Ghazaryan et al., 2019**).

#### **I.2.10.1 Rôle des enzymes antioxydantes**

Le rôle des différentes enzymes antioxydantes dans la condition de stress en cuivre est très crucial contre l'augmentation de la production de ROS (**Gong et al., 2019; Lai et Luo, 2019; Souza Junior et al., 2019**). Les enzymes antioxydantes comprennent principalement CAT (catalase), SOD (superoxyde dismutase) et POX (peroxydase) (**Kapoor et al., 2019**). Ces enzymes antioxydantes peuvent atténuer l'effet de l'augmentation des ROS en les piégeant en produits inoffensifs. Ces enzymes jouent un rôle important dans la différenciation des niveaux optimum et toxique des ROS (**Liu et al., 2018b**). Plusieurs études ont rapporté une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, GPX, APX et CAT), qui a provoqué la désintoxication des ROS et une diminution des dommages oxydatifs de plusieurs plantes. (**Buapet et al., 2018 ; Gong et al., 2019; Rehman et al., 2019**). Le superoxyde dismutase catalyse la dismutation du superoxyde en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et en oxygène moléculaire. La catalase convertit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en O<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O, tandis que POX est important pour la réduction de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O. (**Pourrut et al., 2011 ; Buapet et al., 2018**).

#### **I.2.11 Effet du cuivre sur la santé humain :**

Le cuivre se trouve dans une variété d'aliments et est également disponible sous forme de suppléments. L'alimentation humaine moyenne fournit environ 1,4 mg/jour pour les hommes et 1,1 mg/jour pour les femmes (**Collins, 2014 ; Prohaska, 2012**), tandis que le niveau d'apport le plus élevé sans danger pour une exposition chronique est de 10 mg/jour

(Mahurpawar, 2015). L'apport minimum recommandé par l'organisation mondiale de la santé (OMS) est de 1,3 mg/jour pour un adulte.

Des concentrations de cuivre supérieures à 20 µg/g peuvent être toxiques ; cependant, le sérum humain normal contient 12.7 à 22. 2 µmol/l de Cu (Woimant *et al.*, 2019). La toxicité du Cu chez les humains pourrait être due à l'augmentation du stress oxydatif combinée à des perturbations prononcées du système endocrinien (Uriu-Adams *et Keen*, 2005). Selon le rapport de l'organisation mondiale de la santé (2017), une consommation excessive de Cu dans les boissons et l'eau potable a entraîné des nausées, des vomissements et des diarrhées chez l'homme. Winge *et Mehra* (1990) ont documenté que l'empoisonnement au Cu au stade précoce provoque la faiblesse, la léthargie et l'anorexie chez les humains et plus tard, il endommage le tractus gastro-intestinal et provoque la nécrose des reins (Barceloux *et Barceloux*, 1999). Desai *et Kaler* (2008) ont souligné que l'excès de Cu dans le corps humain entraîne des dommages mitochondriaux, des ruptures de l'ADN, des lésions cérébrales et diverses autres troubles neurologiques.

#### **I.2.11.1 Maladie de Wilson**

Une maladie autosomique récessive rare, présentent un risque élevé de toxicité au cuivre. La maladie de Wilson, qui est causée par une mutation de l'ATP7B, entraîne des taux de cuivre anormalement élevés dans les tissus en raison d'un défaut de clairance du cuivre (Žigrai *et al.*, 2020). Les personnes atteintes de cette maladie peuvent développer des lésions neurologiques et hépatiques pouvant aboutir à une cirrhose. Les patients peuvent également développer une hépatite aiguë, une crise hémolytique et une insuffisance hépatique (Collins, 2014). L'exposition à un niveau élevé de Cu altère la structure et la fonction du foie et du cerveau en raison de l'accumulation de Cu dans ces organes (Wilson *et Pyatt*, 2007).

**I.3 La Fève****I.3.1 Introduction**

La fève (*Vicia faba* L.) est l'une des légumineuses les plus importantes au monde. La production mondiale de fèves était de 5,66 millions de tonnes métriques en 2020, ce qui représente une augmentation d'environ 23.1 % par rapport aux 4,35 millions de tonnes métriques en 1990. Au niveau régional, l'Asie est en tête avec 33,55 % de la production mondiale totale de la fève, suivie de l'Europe (UE) et de l'Afrique, avec respectivement 29,36 % et 27,04 % (FAO, 2020).

Les trois pays les plus producteurs sont la Chine, l'Éthiopie et Royaume-Uni (FAO, 2020 ; Lee et al., 2020). L'Algérie couvre actuellement une moyenne de près de 39 948 hectares avec une production de 49 857 tonnes, 53,5% de la production totale destinée à l'alimentation humaine. La part de la féverole, dont la principale utilisation est son incorporation dans la fabrication d'aliments du bétail. (FAO, 2020 ; Maatougui et al., 2017). La fève est considérée comme une culture importante du point de vue écologique, nutritionnel et économique (Xiao et al., 2021).

Les graines fraîches et sèches de la fève sont utilisées pour la consommation humaine ; elles sont très nutritives car elles ont une teneur élevée en protéines (jusqu'à 35% dans les graines sèches) en glucides (58,3 %) et en fibres alimentaires (25,0 %) (USDA, 2021) et sont une bonne source de nombreux éléments minéraux, tels que K, Ca, Mg, Fe et Zn (Longobardi et al., 2015; Neme et al., 2015). Les graines de la fève contiennent également plusieurs autres composés bioactifs, tels que les polyphénols (Turco et al., 2016), les caroténoïdes (Neme et al., 2015) et les glucides (Landry et al., 2016). Cependant, la composition chimique est fortement influencée par la variété, ainsi que par les conditions environnementales et de gestion (Cazzato et al., 2012; Witten et al., 2015).

La superficie mondiale consacrée à la culture de la fève a presque diminué de moitié, passant de 5,4 millions d'hectares en 1961 à 2,67 millions d'hectares en 2020, mais sa productivité a augmenté de 0,9 t/ha à 2,2 t/ha au cours des années correspondantes (FAOSTAT, 2021). Les raisons de ce déclin sont complexes, mais comprennent la concurrence du soja, l'abandon dans les zones où les mauvaises herbes parasites sont devenues endémiques, et l'instabilité des rendements, car la culture est sensible à de nombreux stress biotiques et abiotiques. Bien que des progrès significatifs aient été réalisés dans la lutte contre les stress

biotiques, la recherche sur la maîtrise des stress abiotiques est limitée (Duc, 1997 ; Mulugeta et al., 2019).

### **I.3.2 Caractéristiques de la plante**

#### **I.3.2.1 Classification botanique de la fève**

Décrite par Linné en 1753, la fève *Vicia faba* L. est une plante dicotylédone herbacée originaire d'Asie ou du Moyen-Orient (Duc, 1997). Sa culture est très ancienne et pratiquée dans le monde entier (Tanno et Willcox, 2006).

Selon Reta Sanchez et al. (2008) ; la fève est classée botaniquement comme suit :

- Règne *Plantae*
- Sous-règne *Tracheobionta*
- Division *Magnoliophyta*
- Classe *Magnoliopsida*
- Sous-classe *Rosidae*
- Ordre des *Fabales*
- Famille des *Fabaceae*
- Genre *Vicia*
- Espèce *faba*

Le genre *Vicia* comprend environ 120 espèces réparties principalement dans les régions tempérées de l'hémisphère nord. La taxonomie interspécifique de *Vicia faba* L. prête à confusion. Plusieurs variétés ont été distinguées sur la base de la morphologie et la taille des graines du cultivar, ont été nommées comme mentionné ci-dessous :

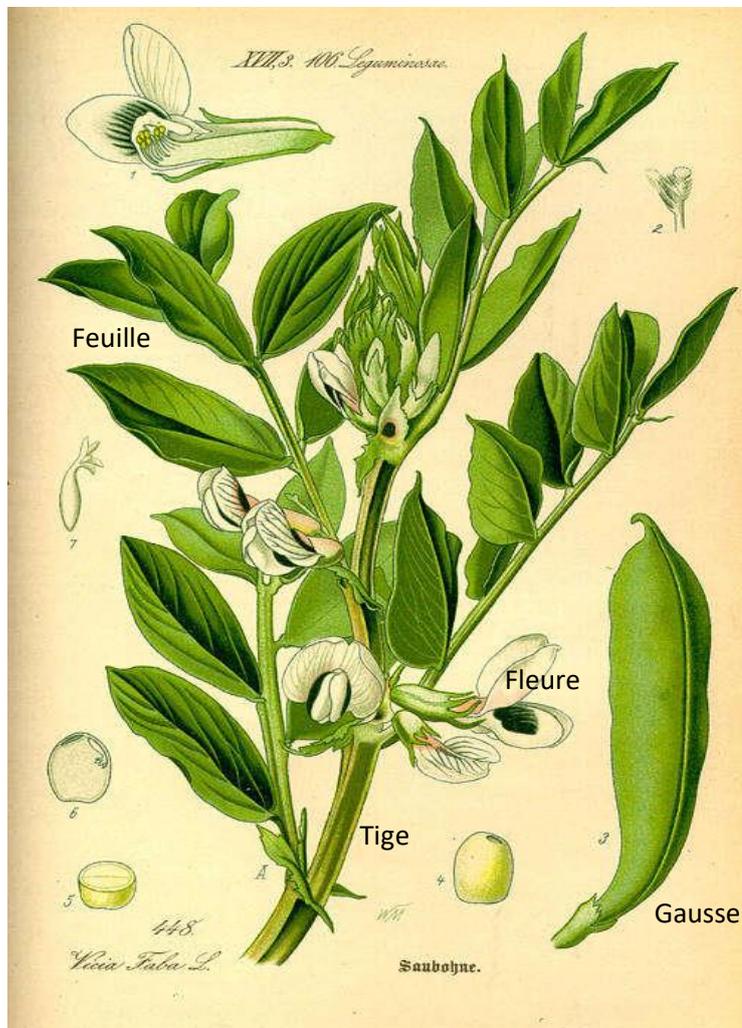
- *Vicia faba* var. *minor* Beck et *Vicia faba* var. *equina* Pers, ou féveroles dont les graines sont respectivement de petite taille et de taille moyenne. Elles sont principalement cultivées pour l'alimentation animale ou comme engrais vert ;

- *Vicia faba* var. *major* Harz, ou fève proprement dite se distingue par la taille importante de ses graines. Elle est destinée à l'alimentation humaine. (Nuessly et al., 2004)

#### **I.3.2.2 Description morphologique de la fève**

La fève (*Vicia faba* L) est une plante herbacée annuelle diploïde ( $2n = 12$  chromosomes) et partiellement allogame (Wang et al., 2012). Plante robuste, grimpante, qui peut

atteindre plus d'un mètre (**Peron, 2006**). Elle est formée d'un appareil végétatif et d'un appareil reproducteur. L'appareil végétatif comprend : les racines, la tige et les feuilles quant à son appareil reproducteur, il est formé par les fleurs qui sont à l'origine des fruits et des graines (**Wang et al., 2012**).



**Figure 7:** Les différentes parties de la fève *Vicia faba* L. (**Thomé, 1885**).

#### a. Les racines

Selon **Duc (1997)**, le système racinaire de *V. faba* L. est formé par une racine principale pivotante et des racines secondaires portant des nodosités contenant des bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium leguminosarum*).

La profondeur de système racinaire de la fève est influencée par le régime de travail du sol, il peut s'enfoncer jusqu'à 80 cm de profondeur, les nodosités sont abondantes dans les 30 premiers centimètres (**Zhao et al., 2018 ; Muñoz-Romero et al., 2011**).

**b. Les feuilles**

Les feuilles sont alternes, composées-pennées, constituées par 2 à 4 paires de folioles ovales, mucronées, sans vrille, de couleur vert glauque ou grisâtre. Les stipules bien visibles en forme dentées (**Chaux et Foury, 1994**).

**c. Les fleurs**

Les fleurs ont une structure typiquement papilionacée et sont regroupées en inflorescences, de 2 à 3 cm de long, de couleur blanche, marron ou violette et portent sur chaque aile une macule noire ou marron (Fig. 8) (**Duc et al., 2015; Heuzé et al., 2016**). L'inflorescence est en grappe axillaire de 1 à 6 fleurs. Les fleurs sont constituées d'un calice à 5 sépales, d'une corolle blanche à 5 pétales (la carène, les ailes et l'étendard), de 10 étamines dont 9 sont soudées et 1 libre. L'ovaire est supère et sessile avec 2 à 4 ovules allant parfois jusqu'à 9. La floraison débute en moyenne au niveau du 7ème nœud et continue jusqu'aux 20 nœuds suivants (**Brink et Belay, 2006**). La reproduction chez la fève peut être selon les lignées autogame ou allogame, mais l'activité de butinage des abeilles sur la fève assure une pollinisation croisée et améliore significativement la production de la plante par rapport à l'autofécondation (**Benachour et al., 2007**).



**Figure 8:** Fleurs de la fève (**Duc et al., 2015**)

**d. Les fruits**

Les fruits sont des gousses charnues qui peuvent avoir de 10 à 20 cm de long selon les variétés et contenir un nombre variable de graines (4 à 9). A l'état jeune, les gousses sont de couleur verte puis noircissent à maturité (**Chaux et Foury, 1994**). Les gousses sont pourvues d'un bec et elles sont renflées au niveau des graines (**Brink et Belay, 2006**).

**e. Les graines**

Les graines sont charnues, varient considérablement en taille, sont oblongues à largement ovales avec un hile proéminent à l'extrémité ; leur couleur peut être jaune, verte, brune, noire ou violette, et parfois des graines sont tachetées (Duc et al., 2015).

Chaux et Foury (1994) rapportent que la faculté germinative de la graine peut se maintenir 6 à 10 ans et même au-delà et que la graine est à germination hypogée c'est-à-dire que les cotylédons restent en terre et c'est l'épicotyle qui émerge du sol.



**Figure 9:** Différentes formes de grains de la fève (Duc et al., 2015)

**I.3.3 Exigences de la fève**

La fève est localisée dans l'étage bioclimatique de 250 mm de pluie, tolère bien le froid (jusqu'à -3 et -4°C) (Herzog, 1984) et les hautes températures ; la somme de températures nécessaires pour accomplir son cycle végétatif varie de 1900 à 2000 °C (Carlu, 1952). Cette plante méditerranéenne est peu exigeante sur le plan type de sol, à condition que ce dernier soit bien ensoleillé et pas trop acide. Son pH optimal se situe aux environs de 6,75, mais elle tolère bien les pH compris entre 5,5 et 8. Sa température optimale de pousse se situe aux environs de 20°C (Foltete, 2010).

**I.3.4 Cycle biologique de la fève**

La fève est une plante annuelle, son cycle complet, de la graine à la graine est d'environ 5 mois (Chaux et Foury, 1994). D'après Brink et Belay (2006), le développement de la fève est caractérisé par cinq stades principaux : germination et levée, développement végétatif, développement reproductif, sénescence de la gousse et sénescence de la tige.

**I.3.5 Importance agronomique**

Comme toutes les légumineuses, l'espèce *Vicia faba* L. assure sa nutrition azotée par deux voies : l'assimilation de l'azote minéral du sol et la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique. Cette aptitude à fixer l'azote atmosphérique limite l'utilisation des engrais azotés qui sont coûteux pour l'agriculteur et néfastes pour la santé humaine et l'environnement (Stoddard et al., 2010). L'inclusion de la fève dans la rotation des cultures réduit le besoin d'engrais azoté inorganique et par conséquent réduit les émissions de CO<sub>2</sub> (Jensen et al., 2012). Les autres avantages fournis par la fève dans les systèmes de rotation comprennent l'amélioration des propriétés physiques du sol, le maintien de la fertilité du sol et la perturbation des cycles des ravageurs et des maladies (Adekiya et al., 2017).

La valeur nutritionnelle de la fève est attribuée à sa teneur élevée en protéines. Elle est aussi une bonne source de glucides, de minéraux, de fibres et de vitamines. Par contre, la proportion lipidique est faible (navelet et al., 2004). La fève constitue une source considérable d'énergie (344 Kcal/100g) et peut efficacement remplacer les protéines animales dans les pays pauvres (Chaieb et al., 2011).

**I.3.6 Intérêt en écotoxicologie**

La plante *Vicia faba* est couramment utilisée pour les études cytologiques, physiologiques, radiobiologiques et l'évaluation de la toxicité des métaux lourds (iqbal, 2016). Les principaux avantages de l'utilisation de *V. faba* sont sa disponibilité toute l'année, son utilisation économique, sa culture et sa manipulation faciles ; son utilisation ne nécessite pas de conditions stériles ou de matériaux coûteux et son taux de division cellulaire est rapide ; les chromosomes sont faciles à évaluer pour les dommages génétiques (Kihlman, 1975; Poschenrieder et al., 1989; Gómez-Arroyo et al., 1997; Anwar et al., 2011). L'extrémité des cellules racinaires de *V. faba* sont couramment utilisées pour les études cytogénétiques et mutagènes (Foltete et al., 2011). Les plantes de *V. faba* sont uniques dans leur capacité à servir d'organisme sensible, qui offre un large éventail de dommages génétiques, notamment des mutations génétiques, des aberrations chromosomiques et des dommages nucléaires (Monarca et al., 2005 ; Leme et Marin-Morales, 2009 ; Gustavino et al., 2012).

# ***CHAPITRE II.***

## ***MATERIEL ET METHODES***

## **II.1 Expérimentation**

### **II.1.1 Objectif de travail**

L'objectif de notre travail de recherche est l'étude de l'effet du cuivre sur le comportement morfo-physiologique et enzymatique de la fève *Vicia Faba*. L.

Cette étude est réalisée dans la serre expérimentale du CRBT Constantine. L'étude consiste en général :

- Préparation d'un substrat de culture dans des pots en plastique,
- Plantation des deux variétés de la fève,
- Application de stress métallique sous forme de  $\text{Cu SO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$ ,

Le suivi de l'expérimentation a duré 35 jours. L'ensemble des paramètres étudiés ont été analysés dans le laboratoire de Technologie Agroalimentaire CRBT de Constantine, et le laboratoire de Biodiversité et Conservation des eaux et des sols de l'université Abdel Hamid Ben Badis de Mostaganem.

### **II.1.2 Matériel végétal**

L'étude a été menée sur deux variétés de la fève (*Vicia faba* L.) : **SIDI AICH (V1)**, une variété locale, féverole minor fournie par l'ITGC de Constantine, et une autre variété d'origine Espagnole, **SUPER AGUADULCE (V2)**.

### **II.1.3 Substrat de culture**

Le substrat de culture utilisé est constitué d'un mélange de sable et de terreau commercial (Tab. 3), avec une proportion de 3 volumes de sable et 1 volume de terreau. Avant son usage, Le sable est préalablement lavé à l'esprit de sel, rincé abondamment à l'eau déminéralisée pour éliminer les chlorures et les carbonates puis laisser sécher à l'air.

Le sable est mélangé au terreau (3 :1 v v) et mis dans des pots en plastique de 30 cm de hauteur et 18 cm de diamètre, ces pots sont tapissés au fond par du gravier pour assurer un bon drainage et remplis par une quantité de 2,5 kg de la mélange préparée. Un échantillon est analysé pour déterminer les propriétés physico-chimiques du substrat (Tab. 4)

Tableau 3: Compositions du terreau

Caractéristiques	Valeurs
<i>Matière organique</i>	<i>70 / 80 % MS</i>
<i>Matière sèche</i>	<i>40 / 50 %</i>
<i>Porosité totale du volume</i>	<i>80 % v/v</i>
<i>Humidité</i>	<i>Min 40% - Max 60%</i>
<i>pH</i>	<i>4.5 – 7.5</i>
<i>Conductivité électrique CE</i>	<i>0.7 dS/m</i>
<i>Azote</i>	<i>50 – 300 mg/l (N)</i>
<i>Potassium</i>	<i>80 – 400 mg/l (K<sub>2</sub>O)</i>
<i>Phosphate</i>	<i>80 – 300 mg/l (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)</i>

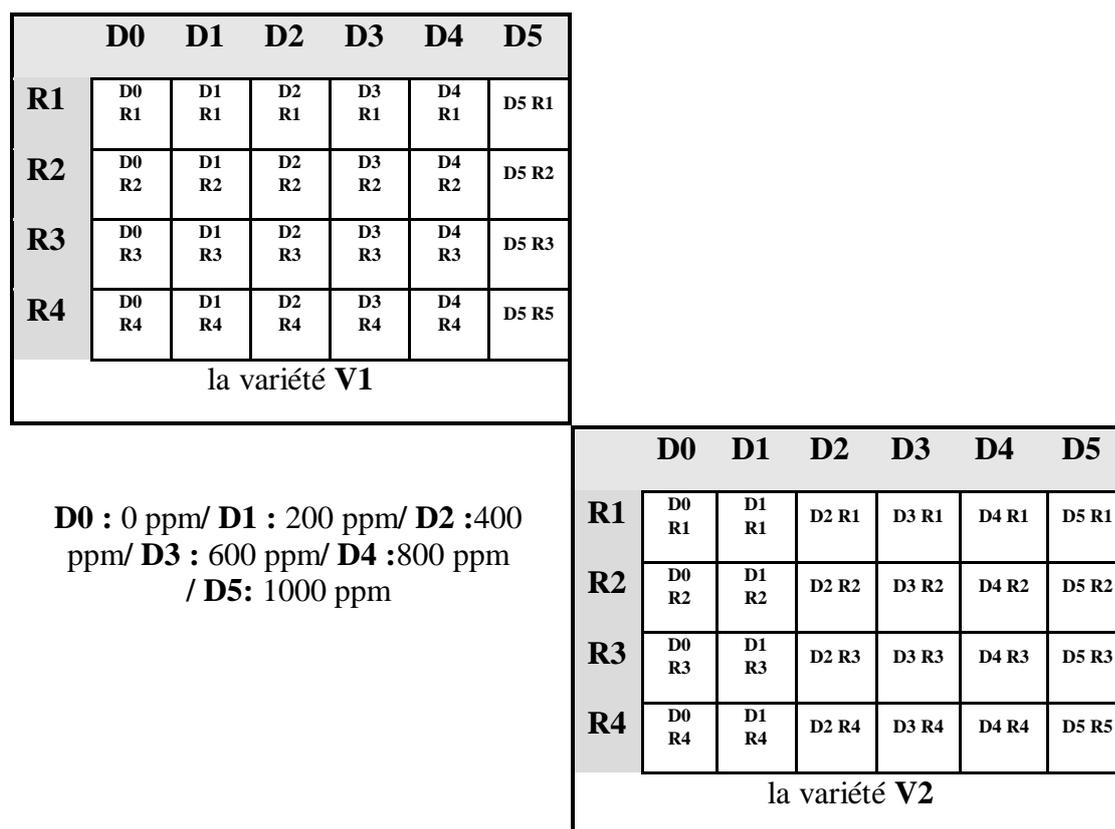
Tableau 4: Propriétés physico-chimiques du substrat.

Propriété	Valeur
<b>Granulométrie % (Pipette De Robinson)</b>	
Ø < 2µm	7,20
2µm < Ø < 50µm	1,50
50µm < Ø < 200µm	58.34
200µm < Ø < 2mm	32.96
<b>pH (AFNOR X31-103 Sol/Eau : 2/5)</b>	6.76
<b>Conductivité Electrique (dS/m) (Iso : 11265 Sol/Eau : 1/10)</b>	1.216
<b>Matière Organique (%) (Méthode De Walkley)</b>	1.34
<b>Calcaire Total (%) Calcimètre De Bernard Iso : 10693</b>	11.71
<b>C.E.C En Meq/100g de Sol</b>	9.28
<b>U.S.D.A Texture</b>	(Sable)

Selon les caractéristiques physico-chimiques du substrat de culture (Tab. 4), la texture est sableuse. La teneur en matière organique est moyenne, elle est de l'ordre de 1.34%. Le pH est légèrement acide (6,76), la capacité d'échange cationique est faible (9.28). Le sol est non salé avec une conductivité électrique de 1.216 dS/m. la teneur en CaCO<sub>3</sub> (11.71%) montre que le sol est modérément calcaire. (Annexe. 01).

#### II.1.4 Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est réparti en deux lots pour chaque variété, Sidi Aïch (V1) et Super Aguadulce (V2), chaque lot est subdivisé en six compartiments en fonction des doses de cuivre appliquées : D0 (Témoin), D1 (200 ppm), D2 (400 ppm), D3 (600 ppm), D4(800 ppm) et D5 (1000 ppm), chaque compartiment comporte quatre répétitions R1, R2, R3, et R4 (Fig.9).



**Figure 10:** Schéma de la répartition des pots de culture dans la serre.

### II.1.5 Conduite de l'essai

#### II.1.5.1 Stérilisation et mise en germination des graines

Les graines des deux variétés sont désinfectées à l'eau de javel à 6% pendant 10 minutes et rincées plusieurs fois à l'eau distillée pour éliminer toute trace de chlore. Ensuite les graines sont disposées dans des boîtes en plastique sur du papier wattman imbibé de l'eau stérile et mises dans des chambres d'incubation à 20°C.

#### II.1.5.2 Repiquage des graines :

Après la mise en germination, les graines sont repiquées dans les pots contenant le substrat de culture et irriguées immédiatement par une solution nutritive ACTIFEG.

La culture de la fève a été réalisée dans une serre semi-automatique (CRBT Constantine), et les conditions de culture ont été maintenues à une température de 19°C pendant la nuit et de 23°C pendant le jour, et l'humidité relative était d'environ 70% pendant l'expérimentation (Fig. 10).

Le repiquage a été appliqué le 21/05/2018.



**Figure 11:** Culture de la fève dans les pots.

### II.1.5.3 Application de stress métallique :

Après 5 jours du repiquage, les plantes ont subi un traitement avec une solution de  $\text{Cu SO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$  avec les doses suivantes : 0,200, 400, 600, 800, 1000 ppm.

### II.1.5.4 Mesure de la capacité de rétention pour l'arrosage

La capacité de rétention est déterminée par la différence entre P1 (poids avant l'irrigation d'un pot contenant de substrat sec utilisé dans l'expérimentation) et P2 (poids de saturation après 24h de décantation). Elle est égale à 21,4 %, L'arrosage est effectué trois fois par semaine par l'eau ; substituée une fois sur trois par une solution nutritive Actifeg jusqu'à l'obtention d'un matériel végétal suffisant pour les analyses (Tab. 5).

**Tableau 5:** Composition de la solution nutritive Actifeg.

Élément chimique	Quantité
N	20%
$\text{P}_2\text{O}_5$	20%
$\text{K}_2\text{O}$	20%
S	0.8%
MgO	0.4%
Fe EDTA	650 ppm
Mn	650 ppm
Mo	50 ppm
$\text{SO}_3$	0.8%
Cu	60 ppm
Zn	300 ppm
Bore (B)	300 ppm

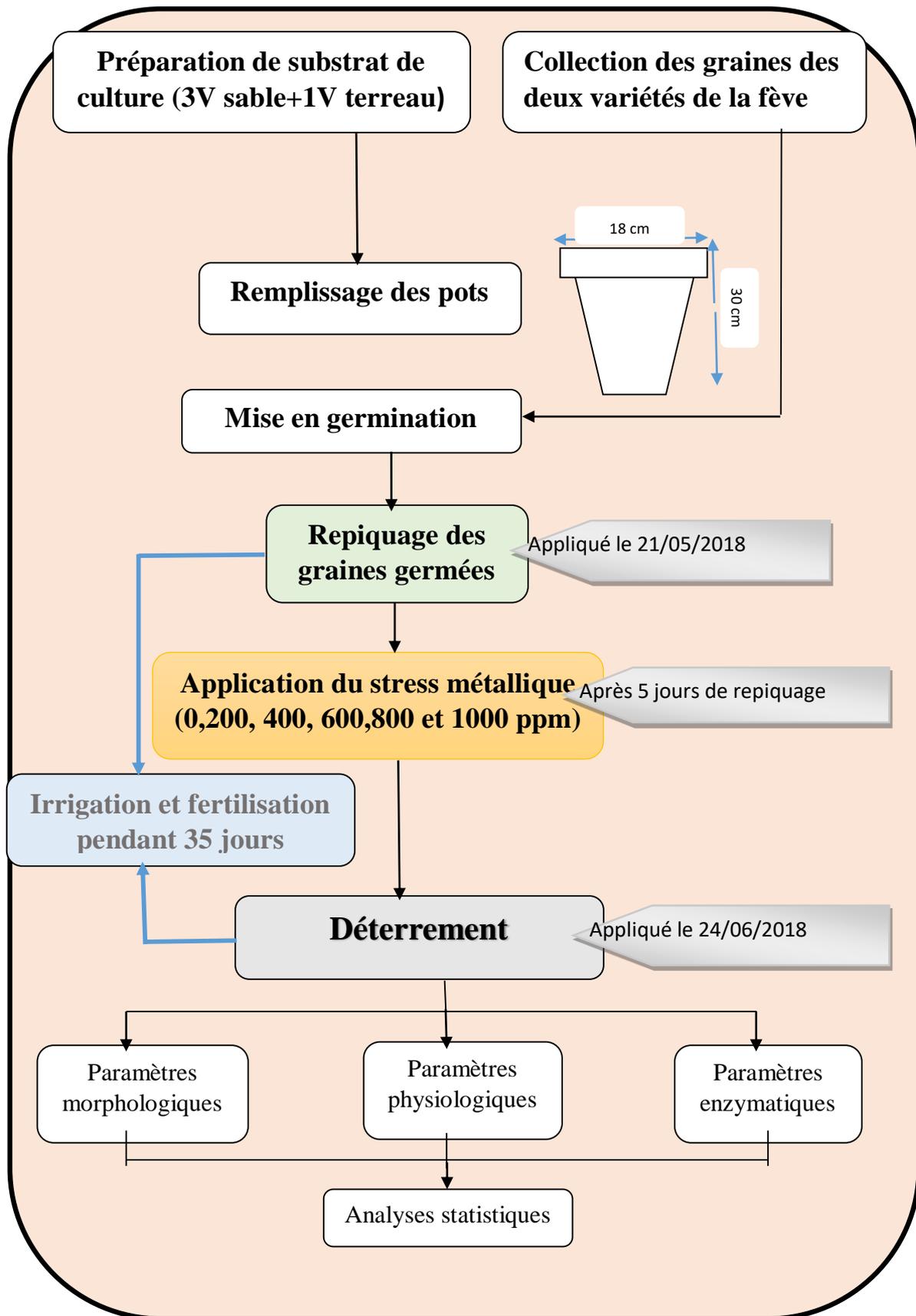


Figure 12: Schéma de conduite de l'expérimentation

**II.2 Méthodes**

Les plantes ont été prélevées et transférées après 35 jours de croissance, afin d'analyser les paramètres suivants :

**II.2.1 Paramètres morfo-physiologiques****II.2.1.1 Paramètres morphologiques**

Les paramètres morphologiques réalisés sont la hauteur de la tige (cm), le nombre des folioles par plant, la surface foliaire (cm<sup>2</sup>) déterminée sur leur scan et traitement par logiciel Image J (Annexe.2), et le volume racinaire (ml) obtenue par immersion dans une éprouvette graduée.

La matière sèche (MS) est déterminée par séchage à l'étuve de l'échantillon pendant 48 heures à 80°C. La biomasse sèche des parties aérienne et racinaire de chaque plante est pesée à la fin de l'expérimentation à l'aide d'une balance de précision et les valeurs sont exprimées en gramme (g).

**II.2.1.2 Paramètres physiologiques et biochimiques****A- Teneur relative en eau (TRE)**

La teneur relative en eau (TRE) calculée 30 jours après l'application du stress métallique est déterminée selon la méthode de **Barrs et Weatherley (1962)** par la formule suivante :

$$\text{TRE (\%)} = [(PF - Ps) / (PpT - Ps)] \times 100$$

**PF** : poids frais (g)

**Ps** : poids sec (g)

**PpT** : poids de pleine turgescence (g)

**B- Paramètres biochimiques****a- Dosage des pigments chlorophylliens**

Les concentrations en pigments chlorophylliens (chlorophylle a, chlorophylle b, caroténoïdes) sont déterminées par spectrométrie selon la procédure citée par **Lichtenthaler (1987)**, les teneurs sont exprimées en mg/g de matière fraîche en utilisant les formules suivantes (**Wang et al., 2010**):

- chlorophylle a (**Chl a**)= 12,25 × A663 – 2,79 × A645
- chlorophylle b (**Chl b**)= 21,50 × A645 – 5,10 × A663

- caroténoïdes (**CRTN**) =  $(1000 \times A_{470} - 1,82 \times \text{Chl a} - 85,02 \times \text{Chl b})/198$ .

**b- Dosage des protéines**

Le contenu protéinique est déterminé selon la méthode **Bradford (1976)** qui utilise le sérum albumine bovin (BSA) comme standard. Les concentrations sont calculées d'après la lecture au spectrophotomètre UV-Visible à 595nm, et sont exprimées en mg/g de matière fraîche.

**c- Dosage de la proline**

La méthode suivie pour la détermination de la concentration en proline est celle de **Troll et Lindsley (1955)**, simplifiée et mise au point par **Dreir et Goring (1974)**. La concentration est estimée en mg/g de matière fraîche après conversion de la densité optique lue sur un spectrophotomètre UV-Visible avec une longueur d'onde de 528nm.

**d- Dosage des sucres solubles**

La détermination de la quantité des sucres solubles est réalisée par la méthode à l'Anthrone de **Shields et Burnett (1960)**. Les concentrations sont exprimées en mg/g de matière fraîche par spectrophotomètre UV-Visible à 585nm.

**II.2.2 Paramètres enzymatiques****II.2.2.1 Dosage des métabolites secondaires****a- Conteneur en Polyphénols TPC**

La teneur en polyphénols totaux est déterminée selon la méthode de dosage sur microplaque décrite par **Muller et al., (2010)** par l'utilisation du réactif Folin-Ciocalteu (**Singleton et Rossi, 1965**). Les teneurs en TPC sont exprimées en µg/mg de matière sèche et sont établies par spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 760nm.

**b- Conteneur en flavonoïdes TFC**

Les flavonoïdes totaux sont déterminés par la méthode décrite par **Topçu et al. (2007)**, après lecture au spectrophotomètre UV-visible à 415 nm, les concentrations sont exprimées en µg/mg.

**II.2.2.2 Dosage des enzymes antioxydantes****a- Dosage de Catalase (CAT; EC1.11.1.6)**

La catalase est déterminée selon la méthode **Zhang et al (2009)** par spectrophotomètre UV-visible. L'activité de la catalase est déterminée par la régression de l'absorption à 240nm par intervalle d'une minute, elle est donnée en  $\Delta DO$  240/mg de protéines.

**b- Dosage de peroxydase Guaiacol (GPx;CE1.11.1.7)**

La peroxydase est déterminée selon la méthode citée par **Zhang et al (2009)** par spectrophotomètre UV-Visible à une longueur d'onde de 470nm. l'activité de la peroxydase est calculée par la progression de l'absorption par ½ minute d'intervalle, elle est exprimée en  $\Delta DO$  470/mg de protéines.

**II.2.3 Dosage de cuivre dans la plante**

Le dosage du cuivre dans les deux parties de plante (racines et parties aériennes) est effectué par spectrométrie d'absorption atomique (SAA) selon la méthode décrite par Vogel-Milkus et *al.*, (2005).

**II.2.3.1 Facteur de translocation**

Le facteur de translocation (TF) a été calculé à partir de la concentration de métal dans la partie aérienne de la plante divisée par celle trouvée dans la racine. Le TF est utilisé pour évaluer le transfert du métal entre la racine et la partie aérienne. Ce facteur est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Facteur de translocation (TF)} = \frac{\text{concentration du métal dans la partie aérienne}}{\text{concentration du métal dans la partie racinaire}}$$

**II.2.4Analyse Statistique**

L'ensemble des données obtenus sont analysé par stat box version 6.40, une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs, comparaison de moyenne selon le test Newman-Keuls à  $p < 0,05$ . Ainsi une matrice de corrélation a été réalisée à l'aide du test de Pearson à un niveau de signification  $\alpha = 0,05$ .

## ***CHAPITRE III.***

### ***RESULTATS ET DISCUSSION***

### III.1 Résultats

#### III.1.1 Effet du cuivre sur les paramètres morphologiques

##### III.1.1.1 Hauteur de la tige

D'après les résultats obtenus (Fig. 12) l'augmentation de la dose de cuivre dans le substrat de culture provoque une diminution de la hauteur des tiges de la fève. La diminution de la hauteur des tiges observée est importante à partir de la dose de 400 ppm chez la variété Sidi Aïch (V1) et à partir de la dose de 600 ppm pour la variété Super Aguadulce (V2), où on a enregistré des diminutions de l'ordre de plus de 17 % pour les deux variétés (Tab.6). Cette diminution atteint son maximum à la dose de 1000 ppm avec une diminution de 45% et 31 % respectivement pour la variété Sidi Aïch et la variété Super Aguadulce (Tab.6).

La hauteur de la tige subit une légère diminution en présence de la dose 200 ppm de cuivre chez les deux variétés étudiées, on enregistre respectivement des réductions de l'ordre de 3,96 à 3,27 % pour les deux variétés (V1 et V2), ainsi que, chez la variété Super Aguadulce, la réduction est n'est que 8,4 % à la dose 400 ppm par rapport au témoin.

Les résultats de l'analyse de la variance (Tab.7) montrent que l'évolution de la hauteur des tiges est étroitement liée ( $p < 0.001$ ) à la variation de la dose de cuivre appliquée. Ces résultats montrent également, que la fluctuation de ce paramètre n'est affectée ni par le facteur variétal ni par l'interaction des deux facteurs étudiés ( $p > 0.05$ ).

**Tableau 6 :** Hauteur de la tige (cm) des deux variétés de la fève exposée au cuivre

Dose de Cu (ppm)	V1		V2	
	Hauteur de la tige (cm)	Evolution (%)	Hauteur de la tige (cm)	Evolution %
0 <sup>a</sup>	56,75±4,57	/	53,5±1,91	/
200 <sup>a</sup>	54.5±3,10	-3,96	51,75±2,87	-3,27
400 <sup>b</sup>	47±2,44	-17,18	49±4,24	-8,41
600 <sup>c</sup>	37,5±4,04	-33,92	43,75±1,70	-18,22
800 <sup>c</sup>	39,25±3,18	-30,83	41,75±3,30	-21,96
1000 <sup>d</sup>	31±6,48	-45,37	36,75±2,21	-31,30

Tableau 7: Analyse de la variance des paramètres morphologiques (Annexe. 3).

Variables	Dose de Cu (F1)	Variété (F2)	Interaction (F1×F2)
	Probabilité		
Hauteur de la tige	<0.001 ***	0,0778 <sup>ns</sup>	0,1234 <sup>ns</sup>
Nombre de Foliolles	<0.001 ***	0,0255*	0,9389 <sup>ns</sup>
Surface Foliaire	<0.001 ***	<0.001 ***	0,0727 <sup>ns</sup>
Volume Racinaire	<0.001 ***	0,288 <sup>ns</sup>	0,0677 <sup>ns</sup>
Poids sec racinaire	<0.001 ***	0,2919 <sup>ns</sup>	0,0597 <sup>ns</sup>
Poids sec de la partie aérienne	<0.001 ***	0,7525 <sup>ns</sup>	0,4369 <sup>ns</sup>

(ns : effet non significatif ; \* effet significatif, \*\*\* : effet très hautement significatif)

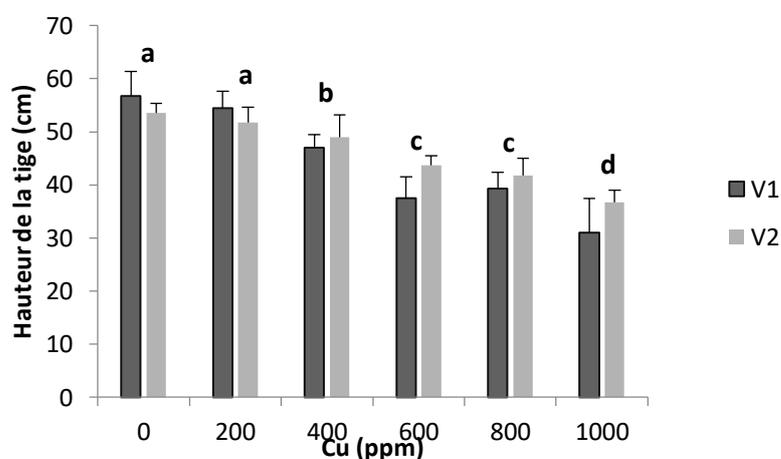


Figure 13: Evolution de la hauteur de tige (cm) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes)

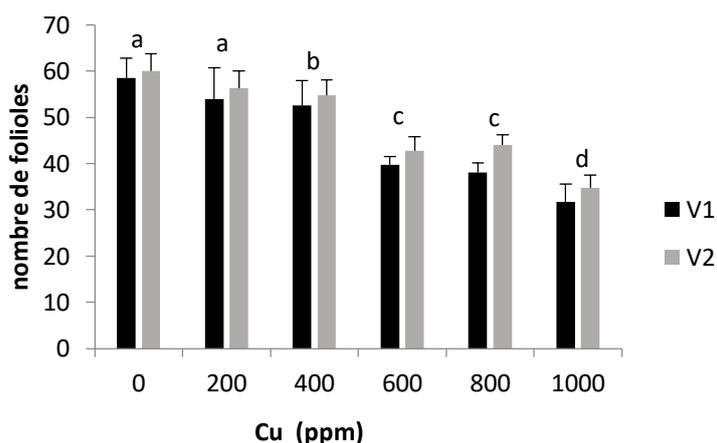


Figure 14: Evolution du nombre de folioles de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes)

### III.1.1.2 Nombre de folioles

Les résultats obtenus montrent une diminution importante du nombre des folioles des plantes stressées par le cuivre par rapport aux plantes témoins. Cette diminution est notable à partir de la dose 400 ppm. Le nombre moyen de folioles enregistré chez la variété Super Aguadulce est légèrement supérieur à ce trouvé chez la variété Sidi Aïch. (Fig.13)

On observe une légère diminution du nombre de folioles chez les deux variétés pour les doses 200 et 400 ppm du cuivre comparativement au témoin, cette diminution par rapport au témoin est comprise entre 7,6 et 10,2% pour la variété V1, et entre 6,2 à 8,7% pour la variété V2. On note une diminution assez importante du nombre de folioles chez les deux variétés à partir de la dose 600 ppm de cuivre, la diminution est de l'ordre de 32 et 28,7 % successivement pour la variété V1 et V2. Le nombre de folioles atteint son niveau le plus bas à la dose 1000 ppm chez les deux variétés V1 et V2, avec une diminution de 45,7 et 42% par rapport au témoin (Tab.8).

L'analyse statistique révèle que l'effet de cuivre sur le nombre de folioles est hautement significatif, ( $p < 0,001$ ). Le type de la variété a également un effet significatif sur le nombre de folioles ( $p < 0,05$ ). Par contre, l'effet de l'interaction des deux facteurs d'étude (variété et dose de cuivre) est non significatif sur le nombre de folioles (Tab. 7).

**Tableau 8:** Nombre de folioles des deux variétés de la fève exposées au cuivre.

Dose de Cu (ppm)	V1 <sup>b</sup>		V2 <sup>a</sup>	
	Nombre de folioles	Evolution (%)	Nombre de folioles	Evolution %
0 <sup>a</sup>	58,5±4,21	/	60±3,74	/
200 <sup>a</sup>	54±6,68	-7,69	56,25±3,77	-6,25
400 <sup>b</sup>	52,5±5,44	-10,25	54,75±3,30	-8,75
600 <sup>c</sup>	39,75±1,70	-32,05	42,75±2,98	-28,75
800 <sup>c</sup>	38±2,16	-35,04	44±2,16	-26,66
1000 <sup>d</sup>	31,75±3,77	-45,72	34,75±2,75	-42,08

### III.1.1.3 Surface foliaire

On note une réduction importante de la surface foliaire au fur et à mesure que les doses appliquées du cuivre augmentent (Fig. 14).

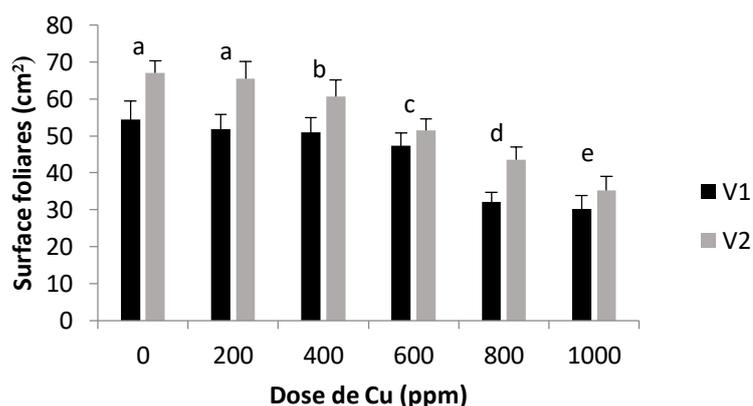
L'application des doses 200 et 400 ppm de cuivre, entraîne des diminutions légères de la surface foliaire chez les deux variétés de la fève, elles sont entre 4,8 à 6,4% pour la variété V1, et entre 2 à 9,3 % pour la variété V2 par rapport au témoin. Tandis que, l'accroissement des doses de cuivre entre 600 à 1000 ppm, provoque une réduction importante de la surface foliaire pour les deux variétés, cette réduction atteint entre 40,8 à 44,3% (800 à 1000 ppm) pour

la variété Sidi Aïch, et entre 34,9 à 47,4 % (800 à 1000 ppm) pour la variété Super Aguadulce (Tab.9).

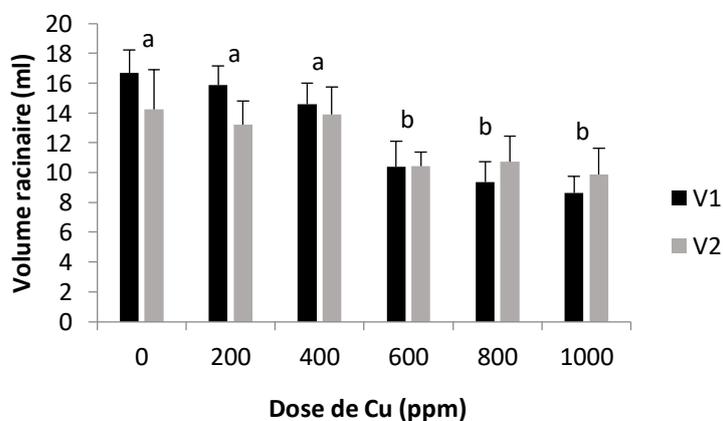
L'analyse de la variance (Tab.7), montre que la surface foliaire est très dépendante de la variation du facteur dose de cuivre et le type de la variété ( $p < 0.001$ ). Tandis que, l'interaction des deux facteurs, n'influe que faiblement sur la surface foliaire ( $p > 0,05$ ).

**Tableau 9:** Surface foliaire (cm<sup>2</sup>) des deux variétés de la fève exposées au cuivre.

Dose de cuivre (ppm)	V1 <sup>b</sup>		V2 <sup>a</sup>	
	Surface foliaire (cm <sup>2</sup> )	Evolution (%)	Surface foliaire (cm <sup>2</sup> )	Evolution %
0 <sup>a</sup>	54,42±4,98	/	67,03±3,29	/
200 <sup>a</sup>	51,77±4	-4,86	65,58±4,55	-2,16
400 <sup>b</sup>	50,9±4,12	-6,47	60,73±4,44	-9,39
600 <sup>c</sup>	47,35±3,51	-12,99	51,43±3,1	-23,27
800 <sup>d</sup>	32,2±2,52	-40,83	43,58±3,45	-34,98
1000 <sup>e</sup>	30,3±3,55	-44,32	35,23±3,88	-47,44



**Figure 15:** Evolution de la surface foliaire (cm<sup>2</sup>) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes).



**Figure 16:** Evolution du volume racinaire (ml) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes).

### III.1.1.4 Volume racinaire

Les résultats obtenus montrent que l'augmentation de la dose de cuivre appliquée dans le substrat est accompagnée par une réduction du volume racinaire (Fig. 15). Les diminutions obtenus pour les doses de 200 et 400 ppm de cuivre sont faibles par rapport au témoin, on enregistre successivement des régressions de l'ordre de 4,9 à 12,9 % pour la variété V1, et n'est que 2,4 % (400 ppm) à 7% pour la variété V2 (Tab. 10). Le volume racinaire chez les deux variétés diminue fortement pour les doses de 600, 800 et 1000 ppm de cuivre, on enregistre successivement des réductions comprises entre 37% à 48 %, pour la variété Sidi Aïch (V1) et entre 26.6 à 30.7% pour la variété Super Aguadulce (V2).

L'analyse de la variance (Tab. 7) montre que la présence du cuivre dans le substrat provoque une diminution très hautement significative ( $p < 0.001$ ) du volume racinaire de la plante. Cependant, le facteur variétal n'exerce aucun effet significatif sur la variation de volume racinaire. ( $p > 0.05$ ).

**Tableau 10:** Volume racinaire (ml) des deux variétés de la fève exposées au cuivre.

Dose de cuivre (ppm)	V1		V2	
	Surface foliaire (ml)	Evolution (%)	Surface foliaire (ml)	Evolution %
0 <sup>a</sup>	16,67±1,56	/	14,25±2,65	/
200 <sup>a</sup>	15,85±1,32	-4,94	13,22±1,56	-7,19
400 <sup>a</sup>	14,6±1,38	-12,44	13,90±1,85	-2,45
600 <sup>b</sup>	10,37±1,73	-37,78	10,45±0,90	-26,66
800 <sup>b</sup>	9,35±1,37	-43,92	10,72±1,73	-24,73
1000 <sup>b</sup>	8,62±1,11	-48,27	9,87±1,74	-30,70

### III.1.1.5 Poids sec

Les résultats obtenus (Fig16-17) montrent que l'application des doses croissantes de cuivre, implique une diminution du poids sec de la plante (parties racinaires et aériennes). Cette diminution est très prononcée à partir de la dose 400 ppm de cuivre chez les deux variétés de la fève.

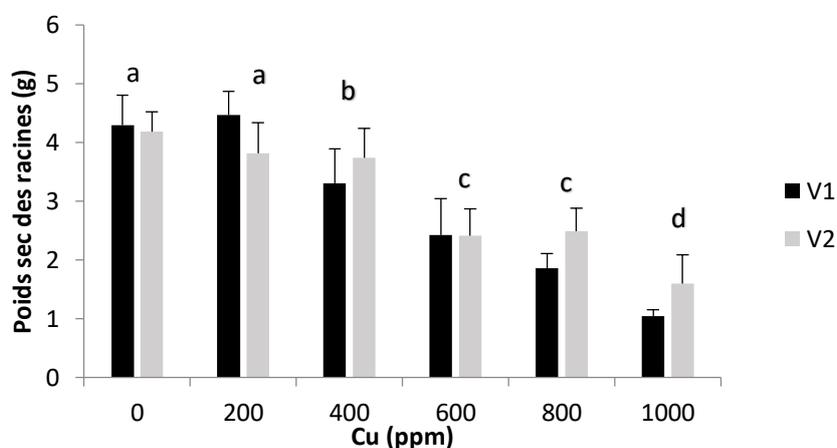
Les régressions du poids sec des racines sont de l'ordre de 75.5% pour la variété V1 et de 61.8% pour la variété V2 à la dose de 1000 ppm de cuivre, alors qu'elles ne sont que de 0.7% pour V1 et 9 % pour V2 à la dose 200 ppm de Cu par rapport au témoin (Tab.11). La partie aérienne enregistre également une diminution assez importante du poids sec, où les diminutions sont de l'ordre de 58.3% pour la variété Sidi Aïch et de 61.6% pour la variété super Aguadulce en présence de la dose 1000 ppm de cuivre, et elles ne sont que de 4,6% pour la

variété V1 et 8.3% pour la variété V2 à la dose 200 ppm de cuivre en comparaison avec les témoins (Tab.11). La diminution du poids sec de la partie racinaire est plus importante comparativement à la partie aérienne de la plante.

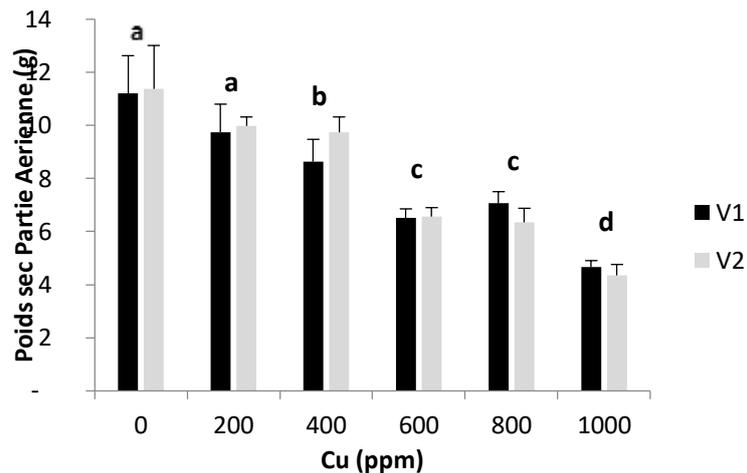
L'analyse de la variance (Tab.7), montre que le stress induit par le cuivre, provoque un effet hautement significatif sur le poids sec de la fève (partie aérienne et racinaire) ( $p < 0.001$ ). Tandis que, le facteur variétal et l'interaction des deux facteurs étudiés n'exercent aucun effet significatif sur la variation des poids sec de la partie aérienne et racinaire de la fève ( $p > 0.05$ ).

**Tableau 11:** Poids sec de la partie racinaire (Ps. R) et la partie aérienne (Ps. A) en g des deux variétés de la fève exposées au cuivre.

Dose de Cu (ppm)	V1				V2			
	Ps. R (g)	Evolut°	Ps. A	Evolut°	Ps. R (g)	Evolut°	Ps. A	Evolut°
0 <sup>a</sup>	4.29 ± 0.51	/	11.22 ± 1.41	/	4.19 ± 0.63	/	11.38 ± 1.64	/
200 <sup>a</sup>	4.32 ± 0.44	0.76	10.7 ± 1.05	-4.63	3.86 ± 0.52	- 9.04	10.42 ± 0.35	-8.35
400 <sup>b</sup>	3.30 ± 0.59	-23.00	8.62 ± 0.86	- 23.13	3.73 ± 0.51	- 10.87	9.73 ± 0.57	-14.40
600 <sup>c</sup>	2.42 ± 0.62	-43.51	6.52 ± 0.33	- 41.84	2.41 ± 0.46	- 42.45	6.56 ± 0.33	-42.31
800 <sup>c</sup>	1.86 ± 0.25	-56.62	7.07 ± 0.42	-36.94	2.49 ± 0.49	- 40.51	6.33 ± 0.54	- 44.29
1000 <sup>d</sup>	1.05 ± 0.11	-75.5	4.67 ± 0.23	- 58.33	1.60 ± 0.49	-61.82	4.36 ± 0.39	-61.65



**Figure 17:** Evolution du poids sec (g) de la partie racinaire de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes).

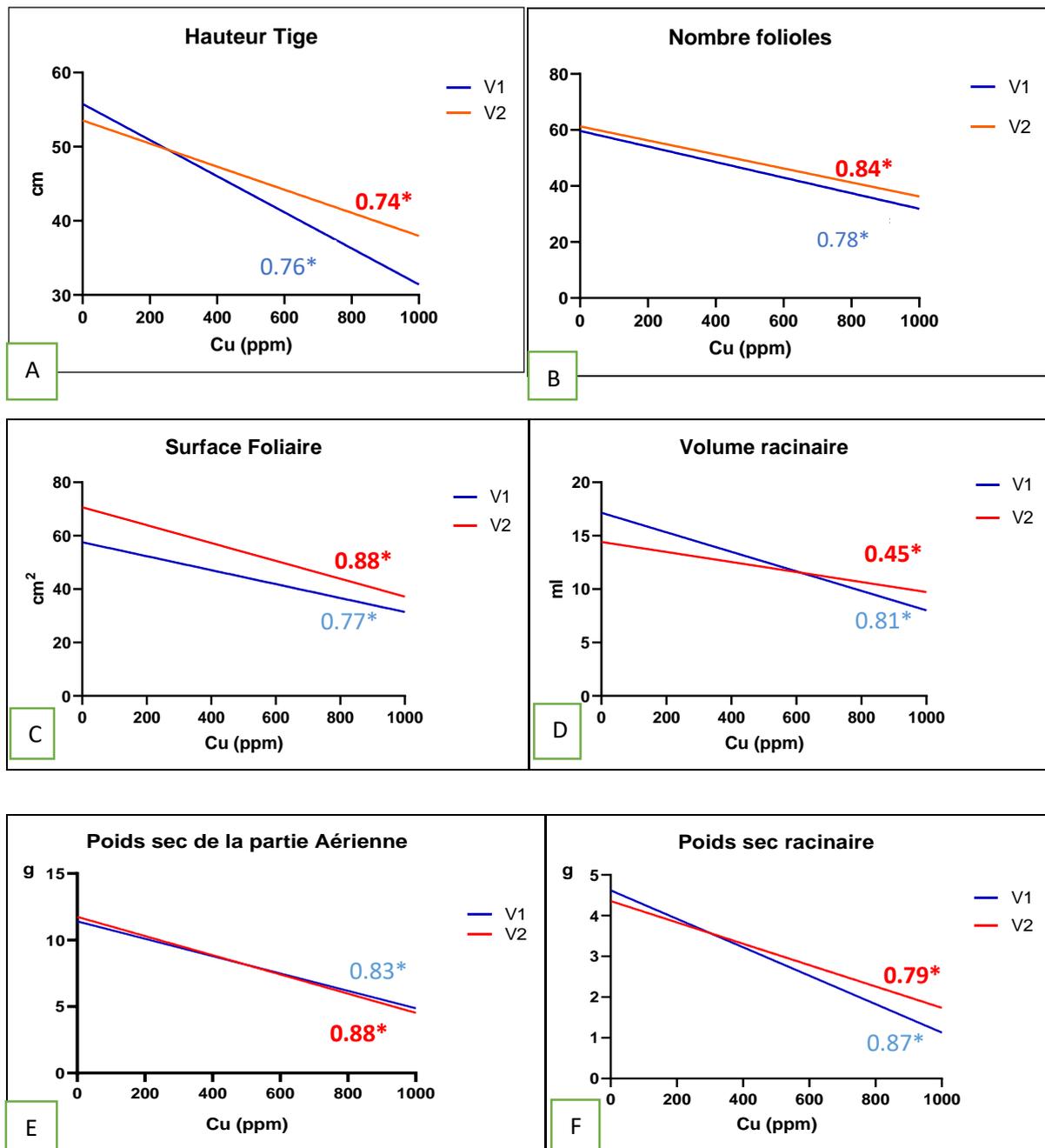


**Figure 18:** Evolution du poids sec (g) de la partie Aérienne de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes).

### III.1.1.6 Corrélation des paramètres morphologiques

Les résultats du test de la corrélation linéaire (Annexe. 5) ont dévoilé les points suivants :

- Une relation significative entre l'augmentation des doses du cuivre appliquées dans le substrat et la diminution de la hauteur de la tige pour les deux variétés de la fève, avec un coefficient de corrélation  $r=-0.76^*$  pour V1 et  $r=-0.74^*$  pour V2. (Fig.18-A),
- Une corrélation significative de l'évolution de nombre de folioles en fonction de la dose de cuivre appliquée dans le substrat de culture, cette corrélation est très forte pour la variété V2 ( $r=-0.78^*$ ) que la variété V1 ( $r=-0.84^*$ ) (Fig.18-B),
- La surface foliaire est fortement corrélée négativement avec les doses de cuivre appliquées dans le substrat, avec un coefficient de corrélation  $r=-0.77^*$  pour V1 et  $r=-0.88^*$  pour la variété V2. (Fig.18-C),
- Une corrélation significative de volume racinaire avec les doses de cuivre, cette corrélation est très forte pour la variété V1 ( $r=0.81^*$ ) contre la variété V2 ( $r=-0.45^*$ ) (Fig. 18-D),
- Une relation significative entre le poids sec et les doses du cuivre appliquées dans le substrat de culture, cette relation est négative pour le poids sec racinaires ( $r=-87^*$  pour Sidi Aïch,  $r=-79^*$  pour Super Aguadulce) et le poids sec aérienne ( $r=-83^*$  pour Sidi Aïch,  $r=-88^*$  pour Super Aguadulce) (Fig.18- E.F).



**Figure 19** : Régression linéaire des paramètres morphologiques en fonction de la dose du cuivre appliquée (ppm) avec le  $R^2$  ( $R$ -square) pour V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce). \*: régression significative.

### III.1.2 Effet du cuivre sur les paramètres physiologiques

#### III.1.2.1 Teneur en Chlorophylle a

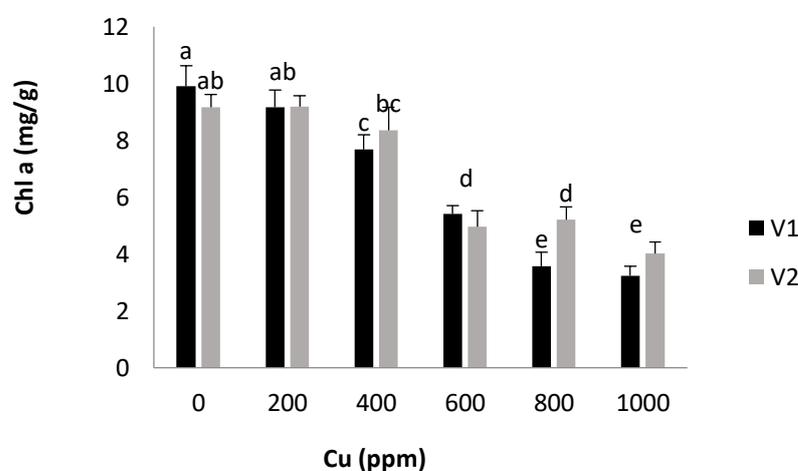
Les résultats obtenus (Fig.19) montrent que la teneur en Chlorophylle a diminue en fonction de l'augmentation de la dose de cuivre appliquée dans le substrat de culture. La diminution de la teneur en chlorophylle a est significative à partir de la dose de 400 ppm où elle est de plus de 22% pour la variété Sidi Aïch et plus de 8% pour la variété Super Aguadulce.

La teneur en chlorophylle **a**, a fortement diminué pour les doses de 600, 800 et 1000 ppm de cuivre. On enregistre des réductions de l'ordre de 45,2% pour les deux variétés de la fève pour la dose de 600 ppm de cuivre, alors qu'elles sont de l'ordre de 67,2% et 56% respectivement pour les variétés V1 et V2 à la dose de 1000 ppm de cuivre (par rapport au témoin) (Tab.12).

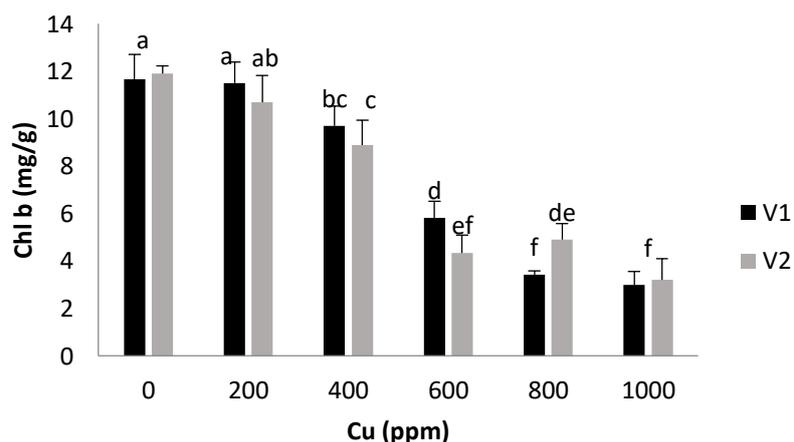
L'analyse de la variance (Tab.19) montre un effet hautement significatif du cuivre sur la teneur en chlorophylle a ( $p < 0.001$ ). Cependant, le facteur variétal provoque un effet significatif sur l'évolution de la teneur en chlorophylle a ( $p < 0.05$ ).

**Tableau 12:** Teneur en chlorophylle a (mg/g) des deux variétés de la fève exposées au cuivre.

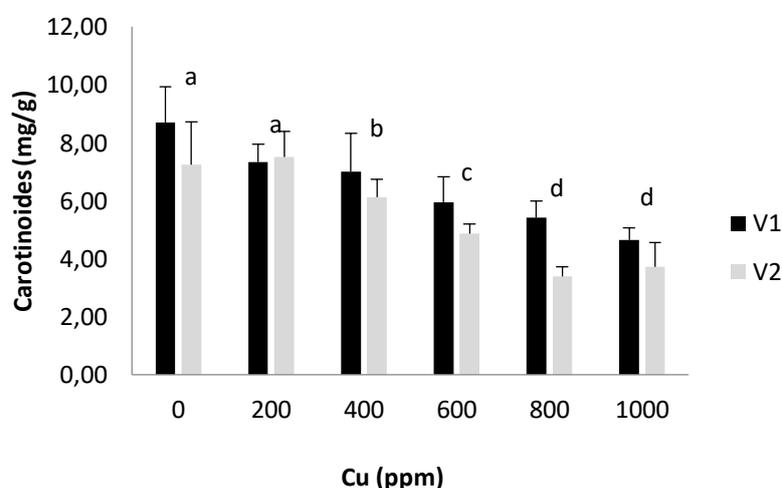
Dose de Cu (ppm)	V1 <sup>b</sup>		V2 <sup>a</sup>	
	Chl a (mg/g)	Evolution (%)	Chl a (mg/g)	Evolution %
0 <sup>a</sup>	9,91±0,72	/	9,16±0,44	/
200 <sup>a</sup>	9,18±0,59	-7,34	9,19±0,37	+0,37
400 <sup>b</sup>	7,68±0,53	-22,51	8,36±0,80	-8,72
600 <sup>c</sup>	5,43±0,28	-45,2	4,97±0,55	-45,71
800 <sup>d</sup>	3,57±0,48	-63,9	5,20±0,45	-43,14
1000 <sup>e</sup>	3,24±0,33	-67,27	4,30±0,39	-56



**Figure 20:** Evolution de la teneur en chlorophylle a (mg/g) de la fève (V1 V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (**a, b, c, d** : Groupes homogènes)



**Figure 21:** Evolution de la teneur en chlorophylle b (mg/g) de la fève (V1 V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes)



**Figure 22:** Evolution de la teneur en caroténoïdes (mg/g) de la fève (V1 V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes)

### III.1.2.2 Teneur en chlorophylle b :

Les résultats obtenus montrent que l'augmentation de la dose de cuivre appliquée dans le substrat est accompagnée par une réduction de la teneur en chlorophylle b (Fig.20), ces diminutions sont importantes à partir de la dose de 400 ppm, où on observe respectivement pour V1 et V2, des régressions de l'ordre de 16,8% et 25,2% par rapport aux témoins.

Les teneurs en chlorophylle **b** ont diminué fortement pour les doses de 600, 800 et 1000 ppm de cuivre, ces diminutions atteignent 74 et 82% à la dose 1000 ppm respectivement pour V1 et pour V2. Par contre, la diminution de la teneur en chlorophylle **b** pour la dose de 200 ppm de cuivre n'est que 1.3 % pour la variété V1, et de l'ordre de 10.2% pour la variété V2 (Tab.13).

L'analyse de la variance (Tab. 19) de l'effet de cuivre sur la teneur en chlorophylle **b** montre un effet hautement significatif ( $p < 0,001$ ). Par contre, le facteur variétal n'exerce aucun effet significatif sur l'évolution de la teneur en chlorophylle b ( $p > 0,05$ ). L'effet de l'interaction bi factorielle « dose de cuivre – variété » est significatif ( $p < 0,05$ ).

**Tableau 13:** Teneur en chlorophylle b (mg/g) des deux variétés de la fève exposées au cuivre.

Dose de Cu (ppm)	V1		V2	
	Chl b(mg/g)	Evolution (%)	Chl b(mg/g)	Evolution %
0 <sup>a</sup>	11,67 ± 1,06	/	11,92 ± 0,30	/
200 <sup>a</sup>	11,52 ± 0,88	-1,32	10,69 ± 1,14	-10,27
400 <sup>b</sup>	9,70 ± 0,82	-16,87	8,90 ± 1,02	-25,27
600 <sup>c</sup>	5,81 ± 0,72	-50,19	4,35 ± 0,75	-63,5
800 <sup>d</sup>	3,42 ± 0,19	-70,71	4,90 ± 0,66	-58,86
1000 <sup>e</sup>	2,96 ± 0,15	-74,68	2,05 ± 0,56	-82,72

### III.1.2.3 Caroténoïdes

Les résultats obtenus (Fig. 21) révèlent une diminution de la teneur en caroténoïdes au fur et à mesure que la dose de cuivre augmente dans le substrat de culture.

L'application de la dose de 200 ppm entraîne une réduction de la teneur en caroténoïdes chez la variété Sidi Aïch (V1) qui évaluée à 15,71%, tandis que chez la variété Super Aguadulce, on observe une faible augmentation de 3,68% par rapport au plante témoin. La teneur en caroténoïdes est réduite chez les plantes traitées par les doses de 400, 600, 800 et 1000 ppm de cuivre. La teneur la plus faible en caroténoïdes est enregistrée à la dose de 1000 ppm chez la variété V1 (46,21% par rapport au témoin), et à la dose de 800 ppm chez la variété V2, (53,36% par rapport au témoin) (Tab.14).

Les résultats de l'analyse de la variance (Tab. 19) révèlent un effet très hautement significatif des deux facteurs étudiés (dose de cuivre et le type de variété) sur la teneur en caroténoïdes ( $p < 0,001$ ). Tandis que, l'interaction de ces deux facteurs n'indique aucun effet significatif sur la teneur en caroténoïdes ( $p > 0,05$ ).

**Tableau 14:** Teneur en en caroténoïdes (mg/g) des deux variétés de la fève exposées au cuivre.

Dose de Cu (ppm)	V1 <sup>a</sup>		V2 <sup>b</sup>	
	Caroténoïdes (mg/g)	Evolution (%)	Caroténoïdes (mg/g)	Evolution %
0 <sup>a</sup>	8,70 ± 1,23	/	7,25 ± 1,46	/
200 <sup>a</sup>	7,33 ± 0,63	-15,71	7,52 ± 0,87	3,68
400 <sup>b</sup>	7,00 ± 1,33	-19,52	6,12 ± 0,63	-15,69
600 <sup>c</sup>	5,94 ± 0,88	-31,69	4,87 ± 0,33	-32,86
800 <sup>d</sup>	5,42 ± 0,56	-37,63	3,38 ± 0,34	-53,36
1000 <sup>d</sup>	4,68 ± 0,54	-46,21	4,23 ± 0,73	-41,75

### III.1.2.4 Teneur en protéines

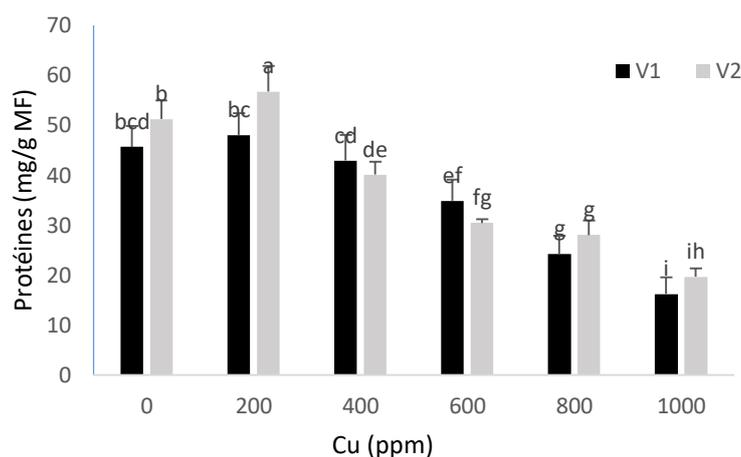
L'application croissante des doses de cuivre dans le substrat de culture implique une diminution de la teneur en protéine à partir de la dose de 400 ppm de cuivre, où elle est de plus de 21% chez la variété Super Aguadulce (V2) et n'est que 5,9% pour la variété Sidi Aïch (V1) (Fig.22). Par contre, la teneur en protéine augmente légèrement à la dose de 200 ppm de Cu chez les deux variétés de la fève (5.22% pour V1 contre 10.73% pour V2).

Des réductions plus importantes (plus de 40%) de la teneur en protéine sont enregistrées à partir de la dose de 800 ppm chez la variété Sidi Aïch, et à partir de la dose de 600 ppm pour la variété Super Aguadulce (Tab.15). Ces réductions atteignent son maximum à la dose de 1000 ppm de cuivre, avec des évolutions régressives arrivent à 64,43 et 61,64% respectivement pour les deux variétés V1 et V2.

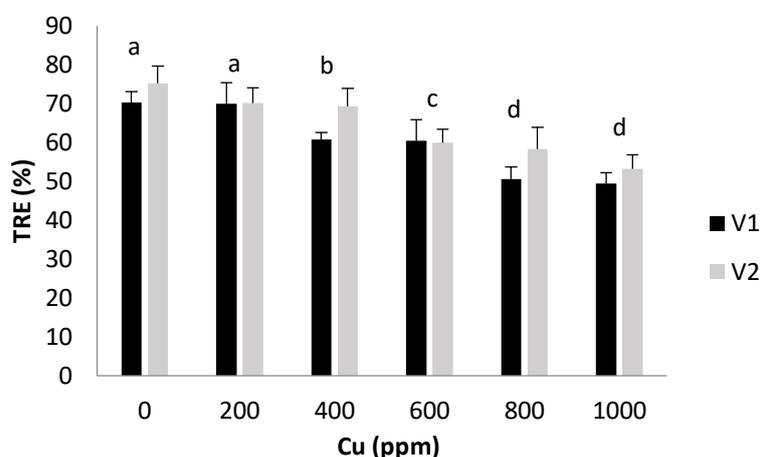
L'analyse de la variance montre un effet hautement significatif ( $p < 0.001$ ), de cuivre sur la teneur en protéines dans les feuilles. Tandis que, le facteur variétal et l'interaction des deux facteurs étudiés signalent des effets significatifs ( $p < 0.05$ ) sur l'évolution de la teneur en protéines (Tab.19).

**Tableau 15:** Teneur en protéines (mg/g MF) dans les feuilles des deux variétés de la fève exposées au cuivre.

Dose de Cu(ppm)	V1 <sup>b</sup>		V2 <sup>a</sup>	
	Protéines (mg/g MF)	Evolution (%)	Protéines (mg/g MF)	Evolution %
0 <sup>b</sup>	45,66±4,19	/	51,25±3,68	/
200 <sup>a</sup>	48,05±4,39	+5,22	56,75±5,08	+10,73
400 <sup>c</sup>	42,94±5,10	-5,97	40,14±2,59	-21,67
600 <sup>d</sup>	34,86±4,32	-23,66	30,49±0,68	-40,50
800 <sup>e</sup>	24,26±3,67	-46,86	28,04±2,91	-45,28
1000 <sup>f</sup>	16,24±3,31	-64,43	19,66±1,66	-61,64



**Figure 23:** Evolution de la teneur en protéines (mg/g) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm). (a, b, c, d, f... : Groupes homogènes)



**Figure 24:** Evolution de la teneur en eau relative (%) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes).

### III.1.2.5 Teneur relative en eau

Les résultats obtenus (Fig.23) montrent que l'augmentation de la dose de cuivre provoque une diminution de la teneur en eau relative (TRE) des feuilles de la fève. Cette diminution est importante à partir de la dose 400 ppm chez la variété Sidi Aïch (plus de 13%), et à partir de la dose 600ppm pour la variété Super Aguadulce (plus de 20%). A la dose 1000 ppm, la teneur relative en eau diminue fortement par rapport au plante témoin, en atteignant à 29% chez les deux variétés étudiés (Tab.16).

L'analyse de la variance (Tab.19) montre que l'effet du cuivre sur la teneur en eau relative est très hautement significatif ( $p < 0.001$ ). Ainsi que, le facteur variétal signale un effet significatif ( $p < 0.01$ ), ou la teneur en eau relative de la variété Super Aguadulce est légèrement

supérieure à celle de l'autre variété. L'interaction à ces deux facteurs, n'indique aucun effet significatif ( $p > 0,05$ ).

**Tableau 16:** Teneur relative en eau (TRE) des deux variétés de la fève (V1, V2) en fonction des doses de cuivre.

Dose de Cu (ppm)	V1 <sup>b</sup>		V2 <sup>a</sup>	
	TRE(%)	Evolution (%)	TRE(%)	Evolution %
0 <sup>a</sup>	70,21 ± 2,89	/	75,23 ± 4,39	/
200 <sup>a</sup>	69,96 ± 5,31	-0,35	70,07 ± 3,99	-6,86
400 <sup>b</sup>	60,72 ± 1,85	-13,52	69,34 ± 4,58	-7,83
600 <sup>c</sup>	60,35 ± 5,53	-14,04	60,00 ± 3,30	-20,24
800 <sup>d</sup>	50,60 ± 3,17	-27,92	58,34 ± 5,52	-22,45
1000 <sup>d</sup>	49,51 ± 2,68	-29,48	53,20 ± 3,63	-29,28

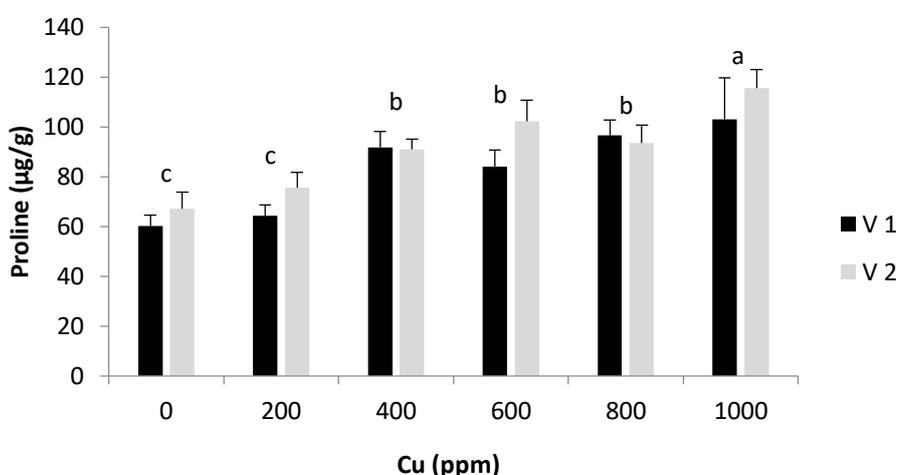
### III.1.2.6 Teneur en proline

Les résultats obtenus montrent que l'accumulation de la proline est proportionnelle avec l'augmentation des doses de cuivre (Fig.24). Cette accumulation devient importante à partir de la dose de 400 ppm de cuivre, où on remarque une progression de l'ordre de plus de 52% pour Sidi Aïch et plus de 35% pour Super Aguadulce (par rapport au témoin). L'augmentation de la teneur en proline est également importante pour les doses de 600 et 800 ppm de Cu (60.7% pour V1 et 52.1 % pour V2). La teneur la plus élevée comparativement au témoin est enregistrée à la dose de 1000 ppm de cuivre (plus de 71% pour les deux variétés étudiés) (Tab.17)

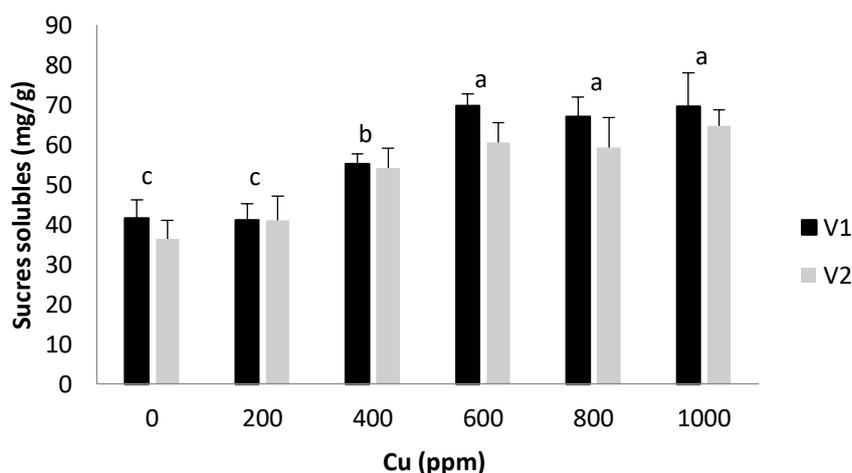
L'analyse de la variance (Tab.19) montre un effet très hautement significatif ( $p < 0.001$ ) de la variation des doses de cuivre sur la teneur en prolines dans les feuilles de la fève, l'analyse montre également un effet hautement significatif ( $p < 0.01$ ) de la variabilité génotypique. Par contre, l'interaction des deux facteurs étudiés n'exerce aucun effet sur les fluctuations de teneur en proline ( $p > 0,05$ ).

**Tableau 17:** Teneurs en proline ( $\mu\text{g/g}$ ) des deux variétés de la fève (V1, V2) en fonction des doses de cuivre.

Dose du Cu (ppm)	V1 <sup>b</sup>		V2 <sup>a</sup>	
	Proline ( $\mu\text{g/g}$ )	Evolution (%)	Proline ( $\mu\text{g/g}$ )	Evolution %
0 <sup>c</sup>	60,14 $\pm$ 4,36	/	67,18 $\pm$ 6,71	/
200 <sup>c</sup>	64,19 $\pm$ 4,53	+ 6,74	75,59 $\pm$ 6,08	+ 12,53
400 <sup>b</sup>	91,69 $\pm$ 6,34	+ 52,47	90,83 $\pm$ 4,11	+ 35,21
600 <sup>b</sup>	84,03 $\pm$ 6,67	+ 39,73	102,23 $\pm$ 8,56	+ 52,18
800 <sup>b</sup>	96,68 $\pm$ 6,01	+ 60,77	93,63 $\pm$ 7,01	+ 39,38
1000 <sup>a</sup>	103,04 $\pm$ 16,55	+ 71,33	115,66 $\pm$ 7,27	+ 72,17



**Figure 25:** Evolution de la teneur en proline ( $\mu\text{g/g}$ ) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes).



**Figure 26:** Evolution de la teneur en sucres solubles ( $\mu\text{g/g}$ ) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes).

### III.1.2.7 Teneur en sucres solubles

Les résultats moyens obtenus (Fig.25), indiquent que l'application du cuivre dans le substrat de culture induit une augmentation des teneurs en sucres solubles chez les deux variétés de la fève.

La teneur en sucres solubles n'augmente que chez la variété Super Aguadulce (V2) à la dose de 200 ppm de Cu, soit une augmentation de 12% par rapport au témoin (Tab.18). Par contre, l'accumulation de sucres solubles devient importante à partir de la dose 400 ppm de cuivre, ou on enregistre des augmentations de l'ordre de 32,9 et 49% respectivement chez les variétés V1 et V2 par rapport au témoin. Ces accumulations sont très importantes pour les doses de 600 à 1000 ppm de cuivre, ou on observe des augmentations de l'ordre de 67.6 et 77.94 % pour les deux variétés V1 et V2 par rapport au témoin.

L'analyse statistique (Tab.19) montre que l'effet de stress métallique ( $p < 0.001$ ) est significatif sur l'accumulation de sucres solubles. Le facteur variétal provoque également un effet hautement significatif sur la teneur en sucres solubles ( $p < 0.01$ ), ou cette teneur est plus élevée chez de la variété Sidi Aïch que chez la variété Super Aguadulce.

**Tableau 18:** Teneur en sucres solubles ( $\mu\text{g/g}$ ) des deux variétés de la fève (V1 et V2) en fonction des doses de cuivre.

Dose de Cu (ppm)	V1 <sup>a</sup>		V2 <sup>b</sup>	
	sucres solubles ( $\mu\text{g/g}$ )	Evolution (%)	sucres solubles ( $\mu\text{g/g}$ )	Evolution %
0 <sup>c</sup>	41,56 $\pm$ 4,53	/	36,38 $\pm$ 4,57	/
200 <sup>c</sup>	41,14 $\pm$ 4,03	-1,02	40,94 $\pm$ 6,20	+12,53
400 <sup>b</sup>	55,25 $\pm$ 2,34	+ 32,94	54,22 $\pm$ 4,95	+ 49,04
600 <sup>a</sup>	69,69 $\pm$ 3,00	+ 67,69	60,54 $\pm$ 4,88	+ 66,67
800 <sup>a</sup>	66,99 $\pm$ 4,94	+ 61,19	59,20 $\pm$ 7,67	+ 62,73
1000 <sup>a</sup>	69,58 $\pm$ 8,39	+ 67,42	64,73 $\pm$ 4,03	+ 77,94

**Tableau 19:** Analyse de la variance des paramètres physiologiques (Annexe. 3).

Variables	Dose de Cu (F1)	Variété (F2)	Interaction (F1×F2)
	Probabilité (P)		
Chl a	<0.001***	0,0361*	0,0005***
Chl b	<0.001***	0,4161 <sup>ns</sup>	0,0118*
caroténoïdes	<0.001***	0,0002***	0,2401 <sup>ns</sup>
Protéines	<0.001***	0,0298*	0,0086**
RWC	0,0014**	0,0034**	0,2653 <sup>ns</sup>
Proline	<0.001***	0,0017**	0,0659 <sup>ns</sup>
Sucres solubles	<0.001***	0,0037**	0,4845 <sup>ns</sup>

(ns : effet non significatif ; \* : effet significatif, \*\* : effet très hautement significatif, \*\*\* : effet très hautement significatif)

### III.1.2.8 Corrélation des paramètres physiologiques

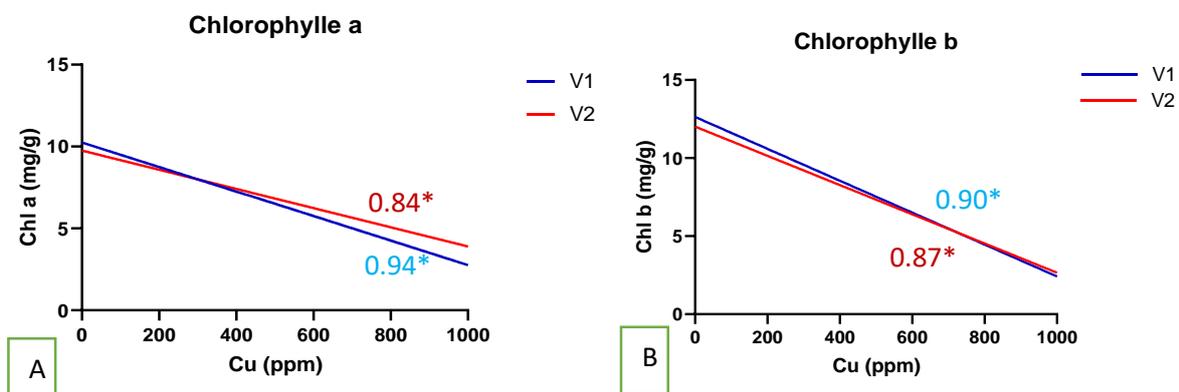
Les résultats du test de la corrélation linéaire (Annexe. 5) permettent de montrer les points suivants :

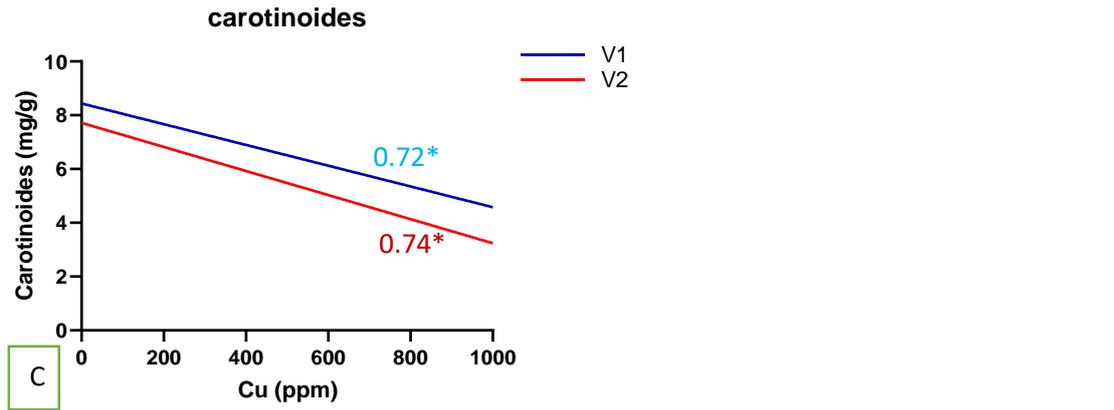
- une corrélation très significative entre l'augmentation des doses appliquées en cuivre et la teneur en pigments photosynthétiques, cette corrélation est négative pour les évolutions de la teneur en chlorophylle a ( $r=-0.94^*$  pour V1 et  $r=-0.84^*$  pour V2), teneur en chlorophylle b ( $r=-0.90^*$  pour V1, et  $r=-0.87^*$  pour V1) et également pour la teneur en caroténoïdes ( $r=-0.73^*$  pour les deux variétés) (Fig.26-A.B.C),

- La teneur en protéines diminue avec l'augmentation du stress au cuivre, cette diminution se traduit par une corrélation très significative et négative pour les deux variétés de la fève ( $r=-0.86^*$  pour V2,  $r=-0.82^*$  pour V1) (Fig.27-D),

- une relation très significative entre la teneur relative en eau et les doses de cuivre appliquées dans le substrat de culture, avec un coefficient de corrélation négatif pour V1 ( $r=-0.73^*$ ) et pour V2 ( $r=-0.77^*$ ) (Fig.27-E),

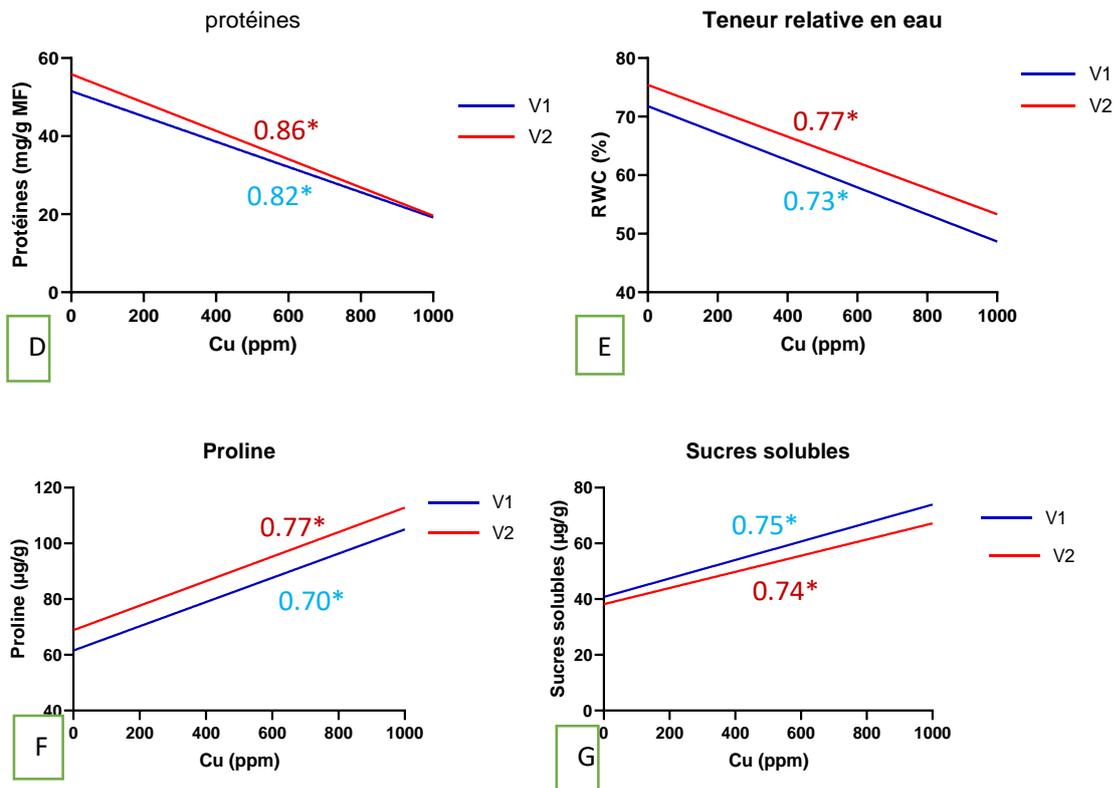
- l'augmentation de la dose du cuivre dans le substrat de culture est corrélée significativement avec l'accumulation de proline et sucres solubles dans les feuilles, cette corrélation est positive pour les évolutions de la teneur en proline ( $r=0.70^*$  pour Sidi Aïch,  $r=0.77^*$  pour Super Aguadulce) et la teneur en sucres solubles ( $r=0.75^*$  pour les deux variétés de la fève) (Fig.27-F.G).





**Figure 27:** Régression linéaire de la teneur des pigments chlorophylliens en fonction de la dose du cuivre appliquée (ppm)

R<sup>2</sup>: (R-square) (A : Chlorophylle a ; B : chlorophylle b et C : caroténoïdes) \* : régression significative.



**Figure 28:** Régression linéaire de la teneur en protéines (D), teneur relative en eau (E), teneur en proline (F) et sucres solubles (G) en fonction de la dose du cuivre appliquée (ppm)

R<sup>2</sup> (R-square) \* : régression significative.

### III.1.3 Effet du cuivre sur l'activité antioxydante non enzymatique

#### III.1.3.1 Teneur en polyphénols totaux (TPC)

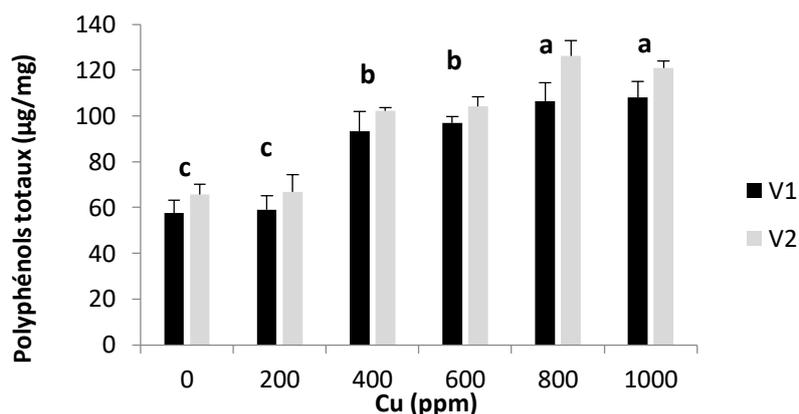
Le taux des polyphénols totaux dans les feuilles de la fève augmente avec l'augmentation des doses de cuivre dans le substrat de culture (Fig.28).

Les polyphénols totaux augmentent légèrement chez les deux variétés à la dose de 200 ppm de cuivre, on signale respectivement des taux d'augmentation de 2,75 et 7,01% pour V1 et V2. Par contre, le taux de polyphénols devient important à partir de la dose de 400 ppm de cuivre, ou les taux d'augmentation sont plus de 62% par rapport au témoin pour les deux variétés de la fève. Ces taux sont très importants pour les doses de 600 à 1000 ppm de cuivre, ou on observe des augmentations allant de 87.8 et 94.18 % pour les deux variétés V1 et V2 par rapport au témoin (Tab.20).

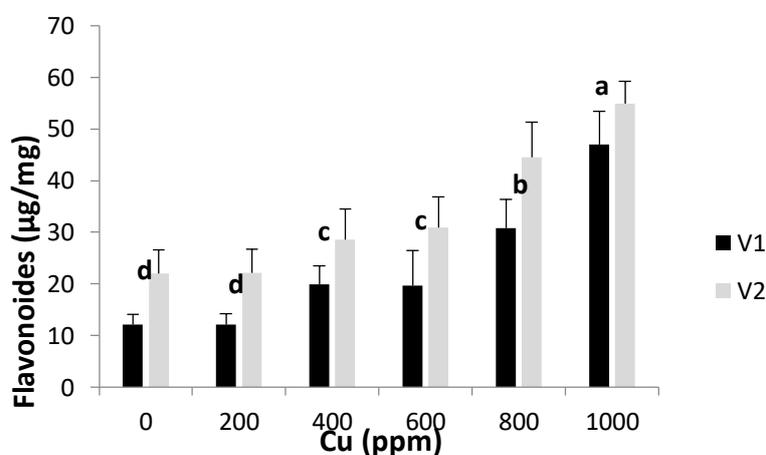
Les résultats d'analyses de la variance (Tab.22) permettent de conclure que les effets des facteurs « dose de cuivre » et « variété » sont hautement significatifs ( $p < 0.001$ ) sur l'accumulation des polyphénols totaux dans les feuilles de la plante. Par contre, l'interaction des deux facteurs n'exerce aucun effet significatif sur les taux de TPC ( $p > 0.05$ ).

**Tableau 20:** Teneur en polyphénols totaux ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  MS) des deux variétés de la fève V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction des doses de cuivre.

Dose de cuivre (ppm)	V1 <sup>b</sup>		V2 <sup>a</sup>	
	TPC ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	Evolution (%)	TPC ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	Evolution %
0 <sup>c</sup>	57,54±5,59	/	65,66±4,63	/
200 <sup>c</sup>	59,12±5,97	2,75	66,7±7,62	7,01
400 <sup>b</sup>	93,41±8,40	62,34	102,33±1,38	64,17
600 <sup>b</sup>	96,87±2,97	68,35	104,16±4,20	67,11
800 <sup>a</sup>	106,29±8,15	84,72	126,16±6,85	102,4
1000 <sup>a</sup>	108,08±6,86	87,83	121,04±2,84	94,18



**Figure 29:** Evolution de la teneur en polyphénols totaux ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c : Groupes homogènes).



**Figure 30:** Evolution de la teneur en flavonoïdes ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes).

### III.1.3.2 Teneur en flavonoïdes (TFC)

La teneur en flavonoïdes dans les feuilles est proportionnelle avec l'augmentation des doses de cuivre chez les deux variétés de la fève (Fig.30).

Les teneurs en flavonoïdes à la dose de 200 ppm sont presque identiques à celles de témoin chez les deux variétés de la fève, au-delà de cette dose (400 ppm), les teneurs en TFC augmentent rapidement pour la variété Sidi Aïch (64%) contre la variété super Aguadulce (30%). La teneur en TFC atteint son maximum à la dose de 1000 ppm de cuivre, avec une progression de plus de 285% et plus de 149% respectivement pour la variété Sidi Aïch et pour la variété Super Aguadulce (Tab.21).

Les résultats de l'analyse de la variance (Tab.22) révèlent des effets hautement significatifs de cuivre et de facteur variétal sur la teneur en flavonoïdes dans les feuilles

( $p < 0.001$ ). Par contre, l'effet de l'interaction bi factorielle de deux facteurs est non significatif ( $p > 0.05$ ).

**Tableau 21:** Teneur en Flavonoïdes ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) des deux variétés de la fève V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose de cuivre.

Dose de Cu (ppm)	V1 <sup>b</sup>		V2 <sup>a</sup>	
	Flavonoïdes	Evolution (%)	Flavonoïdes	Evolution %
0 <sup>d</sup>	12,18±1,97	/	21,98±4,57	/
200 <sup>d</sup>	12,11±2,16	-0,57	22,10±4,6	0,54
400 <sup>c</sup>	19,97±3,54	64,01	28,61±5,94	30,19
600 <sup>c</sup>	19,65±6,75	61,40	30,97±5,86	40,93
800 <sup>b</sup>	30,83±5,5	153,11	44,49±6,84	102,4
1000 <sup>a</sup>	46,95±6,74	285,48	54,92±4,24	149,88

**Tableau 22:** Analyse de la variance des paramètres enzymatiques et non enzymatiques (Annexe. 3).

Variables	Dose de Cu (F1)	Variété (F2)	Interaction (F1×F2)
	Probabilité	Probabilité	Probabilité
<b>Polyphénols totaux</b>	<0.001***	<0.001***	0,24 <sup>ns</sup>
<b>Flavonoïdes</b>	<0.001***	<0.001***	0,899 <sup>ns</sup>
<b>CAT</b>	<0.001***	0,195 <sup>ns</sup>	0,042*
<b>POD</b>	<0.001***	<0.001***	<0.001***

(ns : effet non significatif ; \* : effet significatif, \*\*\* : effet très hautement significatif)

### III.1.4 Effet du cuivre sur l'activité enzymatique antioxydant

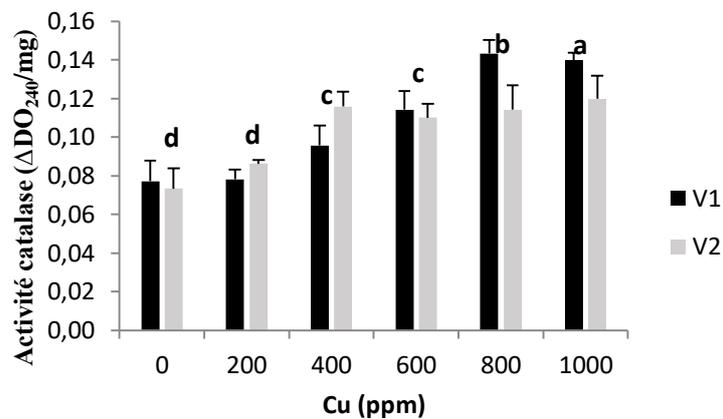
#### III.1.4.1 Activité Catalase (CAT)

Les résultats obtenus (Fig.30), montrent que l'augmentation des doses du cuivre dans le substrat provoque une augmentation de l'activité catalase, cette augmentation est très importante à partir de la dose 400 ppm de cuivre, où elle est plus de 57% pour la variété Super Aguadulce(V2) et plus de 24.1% pour la variété Sidi Aïch (par rapport au témoin) (Tab.23). Cette progression atteint son maximum à la dose de 800 ppm pour la variété V1, et à la dose de 1000 ppm de cuivre pour la variété V2, inscrivant respectivement plus de 85 et 63% pour les deux variétés V1 et V2 en comparaison avec les valeurs enregistrées pour les témoins.

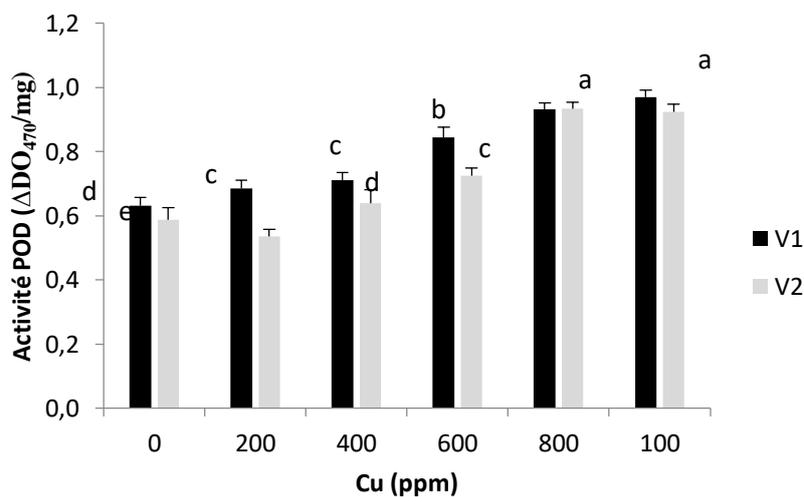
L'analyse de la variance (Tab.22) montre un effet hautement significatif ( $p < 0.001$ ) de cuivre et non significatif du facteur variétal ( $p > 0.05$ ) sur l'activité catalase dans les feuilles de la plante. L'interaction bi factorielle de ces deux facteurs étudiés est non significative ( $p > 0.05$ ).

**Tableau 23:** Activité catalase ( $\Delta O_{240}/mg$  protéine) des deux variétés de la fève V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose de cuivre.

Dose de Cu (ppm)	V1		V2	
	Activité catalase ( $\Delta O_{240}/mg$ protéine)	Evolution (%)	Activité catalase ( $\Delta O_{240}/mg$ protéine)	Evolution %
0 <sup>d</sup>	0,08±0,011	/	0,07±0,0105	/
200 <sup>d</sup>	0,08±0,005	1,39	0,09±0,0019	17,51
400 <sup>c</sup>	0,10±0,010	24,10	0,12±0,0076	57,8
600 <sup>c</sup>	0,11±0,010	48,10	0,11±0,0071	50
800 <sup>b</sup>	0,14±0,007	85,82	0,11±0,012	55,6
1000 <sup>a</sup>	0,14±0,004	81,27	0,12±0,012	63,2



**Figure 31:** Evolution de l'activité de la catalase ( $\Delta DO_{240}/mg$  protéine) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes).



**Figure 32:** Evolution de l'activité peroxydase ( $\Delta DO_{470}/mg$  protéine) de la fève (V1 et V2) en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (a, b, c, d : Groupes homogènes).

### III.1.4.2 Activité Peroxydase (POD)

Selon les résultats obtenus (Fig.31), l'activité de la peroxydase augmente en fonction de l'augmentation des doses de cuivre dans le substrat, l'augmentation de cette enzyme est importante à partir de la dose de 400 ppm chez la variété V1 (12.7%) et à partir de la dose de 600 ppm de cuivre chez la variété V2 (23.4%). Cette activité enzymatique, atteint son maximum pour les doses de 800 et 1000 ppm de Cu. On enregistre successivement des progressions de l'ordre de 47,82 et 53,60% pour la variété V1, et de l'ordre de 59,29 et 57,31% pour la variété V2 (Tab.24). On observe une augmentation de la POD à la dose de 200 ppm ; 8,55% de l'activité POD chez la variété V1, et une réduction de cette activité de 8,69% chez la variété V2.

L'analyse de la variance (Tab.22) révèle des effets hautement significatifs de cuivre, de facteur variétal et de l'interaction de ces deux facteurs ( $p < 0.001$ ) sur l'activité de la peroxydase dans les feuilles de la plante.  $\Delta$

**Tableau 24:** Activité peroxydase ( $\Delta DO_{240}/mg$  protéine) des deux variétés de la fève V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose de cuivre.

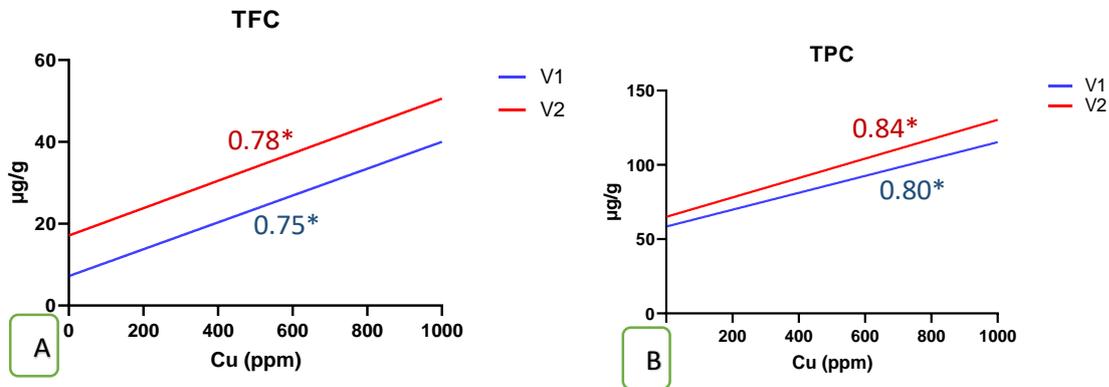
Dose de cuivre (ppm)	V1 <sup>a</sup>		V2 <sup>b</sup>	
	Activité peroxydase ( $\Delta DO_{470}/mg$ protéine)	Evolution (%)	Activité peroxydase ( $\Delta DO_{470}/mg$ protéine)	Evolution %
0 <sup>d</sup>	0,63±0,02	/	0,59±0,03	/
200 <sup>d</sup>	0,68±0,02	8,55	0,54±0,02	- 8,69
400 <sup>c</sup>	0,71±0,02	12,77	0,64±0,04	8,78
600 <sup>b</sup>	0,84±0,03	33,92	0,72±0,02	23,48
800 <sup>a</sup>	0,93±0,01	47,82	0,94±0,018	59,29
1000 <sup>a</sup>	0,96±0,02	53,60	0,92±0,02	57,31

### III.1.4.3 Corrélation des paramètres de l'activité antioxydante

Les résultats du test de la corrélation linéaire (annexe 5) permettent de montrer les points suivants :

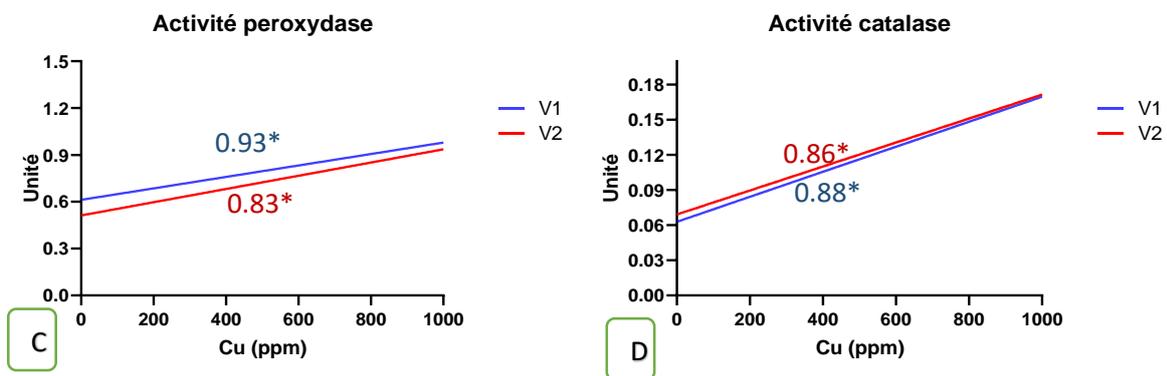
- Une forte corrélation entre l'accumulation des flavonoïdes et l'augmentation des doses de cuivre appliquées dans le milieu de culture, cette corrélation est significative et positive pour les deux variétés de la fève ( $r=0.75^*/0.78^*$ ) (Fig.32.A),
- La corrélation est également significative et positive entre les teneurs en polyphénols totaux et les doses de cuivre ( $r=0.80^*$  pour la variété Sidi Aïch et  $r=0.84^*$  pour la variété Super Agudulce) (Fig.32.B),

- Une augmentation de l'activité enzymatique en fonction de l'augmentation des doses de cuivre appliquées, cette activité est significativement corrélée avec le stress de cuivre pour l'activité peroxydase ( $r=0.93^*$  pour V1 et  $r=0.83^*$  pour V2) et l'activité catalase ( $r=0.88^*/0.86^*$  pour les deux variétés de la fève) (Fig.33.C.D).



**Figure 33:** Régression linéaire de la teneur en Flavonoïdes (A) et en polyphénols (B) (µg/g)

R<sup>2</sup> : R-square, \* : régression significative.



**Figure 34:** Régression linéaire de l'activité de la peroxydase (C) et de la catalase (D) (unité)

R<sup>2</sup> : R-square, \* : régression significative.

### III.1.5 Accumulation du cuivre dans la fève

Les résultats obtenus montrent que l'augmentation de la dose de cuivre appliquée dans le substrat est accompagnée par une augmentation de la teneur en cuivre dans les tissus de la plante (Fig.34-35), cette augmentation affecte les deux parties de la plante (racinaire et aérienne).

La teneur en cuivre accumulée dans les racines, est importante à partir de la dose de 200 ppm de cuivre, où elle est de l'ordre de 41.09 et 37.34 mg/kg MS successivement pour les deux variétés V1 et V2, cette accumulation atteint son maximum à la dose de 1000 ppm et enregistre

plus de 351 mg/kg MS pour V1 (Sidi Aïch) et plus de 345 mg/Kg MS pour V2 (Super Aguadulce), alors qu'elle est de l'ordre de 8.61 mg/kg MS pour V1 et de 9.66mg/kg MS pour V2 aux plantes témoins (0ppm) (Tab.25).

Dans la partie aérienne, la teneur en cuivre accumulée est plus faible que celles enregistrées pour les racines. Les témoins enregistrent 4.34 et 3.69 mg/kg MS respectivement pour les deux variétés V1 et V2, alors que, l'accumulation de cuivre est comprise entre 17 à 19 mg/kg MS à la dose de 200 ppm de cuivre chez les deux variétés, cette accumulation atteint son maximum à la dose de 1000 ppm de cuivre, ou on a enregistré 163.29 et 178.23 mg/kg MS successivement pour les deux variétés (V1 et V2) (Tab.25).

Les résultats de l'analyse de la variance (Tab.26) montre que le facteur dose de cuivre exerce un effet très hautement significatif ( $p < 0.0001$ ) sur l'accumulation du cuivre dans les plantes (partie racinaire et aérienne). Le facteur variétal exerce également un effet significatif sur l'évolution des teneurs en cuivre chez les deux parties de la plante ( $p < 0.05$ ).

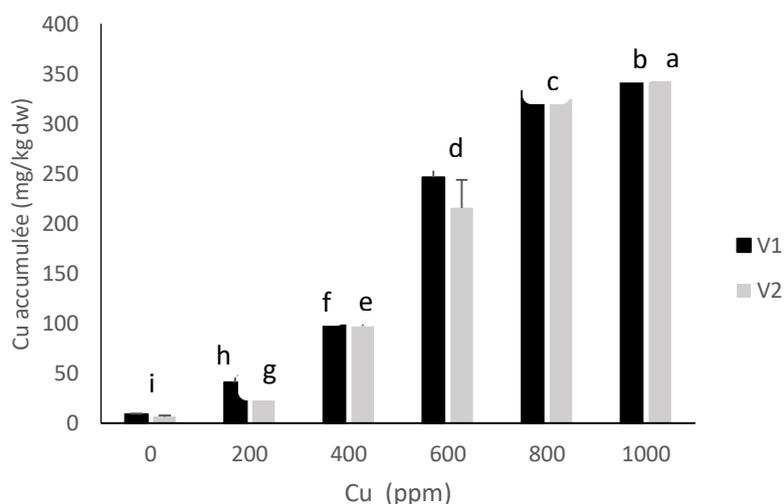
**Tableau 25:** Accumulation de cuivre (ppm) dans la partie racinaire et la partie aérienne des deux variétés de la fève V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce).

Dose de Cu (ppm)	Teneur en Cu dans les racines (ppm)		Teneur en Cu dans la partie aérienne (ppm)	
	V1 <sup>a</sup>	V2 <sup>b</sup>	V1 <sup>b</sup>	V2 <sup>a</sup>
0 <sup>f</sup>	8.61±0.75	9.66±1.16	4.34±0.62	3.69±0.89
200 <sup>e</sup>	41.09±6.56	37.34±3.64	17.63±4.76	19.64±4.49
400 <sup>d</sup>	102.81±10.36	97.15±11.03	57.40±9.41	68.98±8.55
600 <sup>c</sup>	246.51±14.48	215.55±28.2	85.30±7.08	79.85±8.68
800 <sup>b</sup>	332.72±16.63	324.29±14.84	149.9±3.40	150.40±6.78
1000 <sup>a</sup>	351.73±11.52	345.93±24.9	163.29±10.83	178.23±10.75

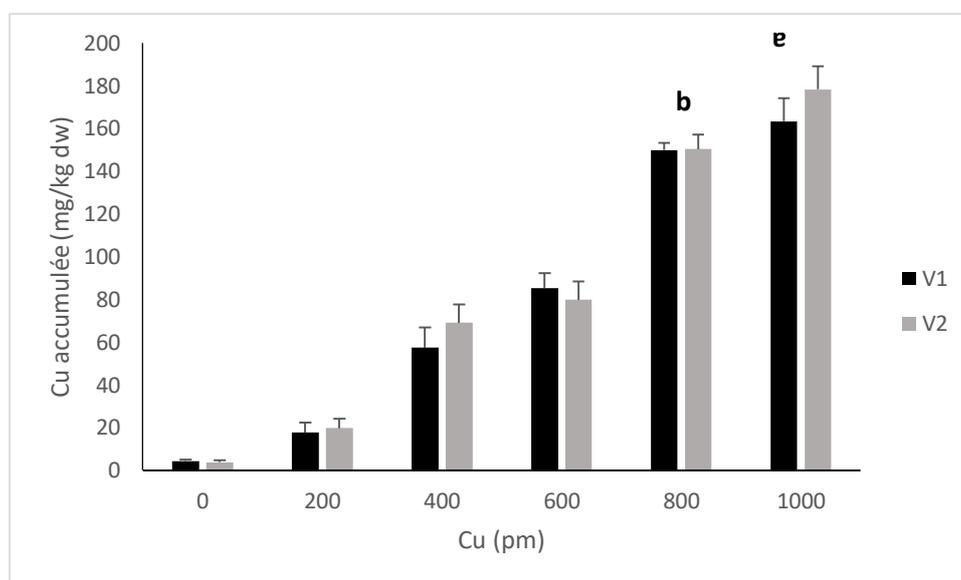
**Tableau 26:** Analyse de la variance de l'accumulation de cuivre dans la fève (Annexe. 3).

Variables	Dose de Cu (F1)	Variété (F2)	Interaction (F1×F2)
	Probabilité	Probabilité	Probabilité
Teneur en Cu dans la partie racinaire	<0.001***	0.022*	0.18 <sup>ns</sup>
Teneur en Cu dans la partie aérienne	<0.001***	<0.013*	0.039*
Facteur de translocation	<0.001***	0.043*	0.74 <sup>ns</sup>

(ns : effet non significatif ; \* : effet significatif, \*\*\* : effet très hautement significatif)



**Figure 35:** Evolution de la teneur en cuivre accumulée dans la partie racinaire (mg/g MS) de la fève en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (**a, b, c, d** : Groupes homogènes).



**Figure 36:** Evolution de la teneur en cuivre accumulée dans la partie aérienne (mg/g MS) de la fève en fonction de la dose de cuivre appliquée (ppm) (**a, b, c, d** : Groupes homogènes).

### III.1.5.1 Facteur de translocation de cuivre

Les résultats obtenus (Tab.27), montrent que le facteur de translocation de cuivre chez les deux variétés de la fève est inférieur à 1 pour toutes les concentrations appliquées du cuivre. Le facteur de la translocation de cuivre le plus faible est enregistré à la dose de 600 ppm de cuivre, ce facteur est compris entre 0.35 à 0.38 successivement pour les deux variétés (V1 et V2), par contre le facteur de translocation le plus élevé est enregistré à la dose 400 ppm de cuivre, on enregistre 0.72 chez la variété V2 contre 0.57 chez la variété Super Aguadulce.

Le taux de translocation de cuivre absorbé vers les parties aériennes est varié entre 30 à 35 % dans les niveaux de traitement de 200, 800 et 1000 ppm de cuivre. Au niveau de traitement 400 ppm, 41,52% de cuivre absorbé est transloqué vers la partie aérienne chez la variété Sup Aguadulce contre 35, 8% chez la variété Sidi Aïch. Par contre à la dose 600 ppm de cuivre, la translocation de cuivre est faible par rapport aux autres niveaux de traitement (25 à 27%).

Les résultats de l'analyse de la variance (Tab.22) révèlent des effets hautement significatifs de cuivre ( $p < 0.001$ ) et significatif de facteur variétal ( $p < 0.05$ ) sur le facteur de translocation de cuivre dans la plante. Par contre, l'effet de l'interaction bi factorielle de deux facteurs est non significatif ( $p > 0.05$ ).

**Tableau 27:** Facteur de translocation de cuivre chez les deux variétés de la fève (V1 et V2).

Dose de Cu (ppm)	Facteur de translocation		Taux de translocation de Cu (%)	
	V1 <sup>b</sup>	V2 <sup>a</sup>	V1	V2
0 <sup>b</sup>	0,51±0,10	0,54±0,22	33.51	27.64
200 <sup>bc</sup>	0,43±0,12	0,52±0,10	30.02	34.47
400 <sup>a</sup>	0,57±0,13	0,72±0,12	35.83	41.52
600 <sup>c</sup>	0,35±0,02	0,38±0,07	25.71	27.03
800 <sup>bc</sup>	0,46±0,03	0,46±0,02	31.06	31.68
1000 <sup>bc</sup>	0,46± 0,03	0,52±0,05	31.71	34.00

## III.2 Discussion Générale

### III.2.1 Paramètres morphologiques

Les résultats obtenus montrent que le stress métallique induit par le cuivre provoque des changements morphologiques dans la plante conduisant à une diminution de la hauteur de la tige, nombre de folioles, surface foliaire, réduction de volume racinaire et la biomasse sèche de la plante entière.

- La hauteur des tiges a diminué progressivement avec l'augmentation des doses de cuivre, cette diminution atteint à la dose de 1000 ppm de cuivre 45% par rapport au témoin.
- L'augmentation de la dose du cuivre a provoqué une réduction de nombre de folioles chez les deux variétés, cette réduction atteint son maximum à la dose de 1000 ppm de cuivre, ou on a enregistré 45% chez la variété Sidi Aïch. Le nombre de foliole est affecté par le critère variétal, ou la variété Sidi Aïch est plus sensible par rapport à la variété Super Aguadulce,
- Il est également établi que la surface foliaire a diminuée au fur et à mesure que la dose de cuivre augmente, cette diminution est plus importante à la dose de 1000 ppm de Cu, ou elle atteint 47 % chez la variété Super Aguadulce,
- L'augmentation de la dose de cuivre dans le substrat de culture est accompagnée par une réduction du volume racinaire, elle atteint son maximum à la dose 1000 ppm (48.27% pour la variété Sidi Aïch et 30.7% pour super Aguadulce),
- Les résultats obtenus indiquent que le stress de cuivre a entraîné une chute significative de la production de la biomasse sèche totale des plantes stressées par les concentrations de 400 à 1000 ppm de cuivre. Le poids sec racinaire est le plus affecté par le stress de cuivre à la dose de 1000 ppm de Cu, ou on note une diminution de 75,5 % pour la variété Sidi Aïch et de 61,8% pour la variété Super Aguadulce. Par contre, on note que le poids sec de la partie aérienne réduit jusqu'à 58,3 % et 61,6 % respectivement pour les variétés Sidi Aïch et super Aguadulce.

Les résultats obtenus sont en concordance avec des études précédentes montrant l'effet négatif du cuivre sur les paramètres morphologiques chez *Phyllostachys pubescens* (chen et al., 2014), *Chloris gayana* (Sheldon et Menzies, 2005), *Inga subnuda* (de Freitas et al., 2015), *Colobanthus quitensis* (Cuba-Díaz et al., 2017) et la vigne (Marastoni et al., 2019).

Nos résultats obtenus sont confirmés par ceux trouvés par **Kalaikandhan et al.,(2014)** qui ont signalé des diminutions significatives des paramètres morphologiques de *Sesuvium portulacastrum L.* (La longueur des racines et des tiges, le nombre de feuilles, la surface foliaire et le poids sec des racines et des parties aériennes), cette plante est traité par 300 et 600 ppm de cuivre.

**Marquez et al., (2019)** ont signalé que la morphologie racinaire de *Peltophorum dubium* a été affectée par un excès de Cu, l'application des doses de 200 et 400 ppm de cuivre provoque des diminutions significatives jusqu'à 25% de la longueur de racine, 24% de la surface racinaire, 29 % de volume racinaire et plus de 52% de leur poids sec par rapport au témoin, avec une réduction significative du poids sec de la partie aérienne (33% par rapport au témoin). L'application des niveaux élevés de Cu (1000 mg/L) ont altéré sévèrement la morphologie du système racinaire de *Peltophorum dubium*.

Selon **Feigl et al., (2013)** La toxicité du cuivre affecte davantage la croissance des racines. Des niveaux élevés de Cu dans le sol peuvent endommager la croissance des racines, entraînant ainsi une diminution de l'absorption des nutriments et de l'eau par les racines (**Sheldon et Menzies, 2005 ; Kopittke et al., 2011**). La diminution de la croissance racinaire est généralement associée au déchirement et à la rupture de l'épiderme racinaire et du cortex externe (**Kopittke et al., 2011**). La toxicité du cuivre provoque un retard de croissance des racines, ce qui comprend un plus petit nombre de ramifications, une coloration foncée, un développement médiocre et moins d'épaississement (**Marques et al., 2019**).

La surface foliaire et le nombre de feuilles de la plante de concombre ont diminué de manière significative (37%) lorsqu'ils ont été exposés à un excès de Cu (20 mg kg<sup>-1</sup> de sable) pendant 20 jours (**Alaoui-Sossé et al., 2004**). Chez le riz, la hauteur des tiges a été réduite jusqu'à 48,4 % à une teneur en Cu de 1000 mg kg<sup>-1</sup> du sol par rapport au témoin (**Xu et al., 2005**). La diminution de la surface foliaire sous l'effet de Cu peut être expliquée par une accumulation de lignine dans le xylème, conduit finalement à l'épaississement et au durcissement de la paroi cellulaire, ce qui a donc posé des effets néfastes sur le développement cellulaire et l'agrandissement de la feuille, en diminuant son élasticité (**Kumar et al., 2021**).

Le stress lié au Cu a significativement diminué la biomasse végétale de manière dose-dépendante (**Thounaojam et al., 2012**), ce qui a été constaté dans cette étude, une diminution significative du poids sec des parties aériennes et racinaires a été détectée chez les deux variétés

de la fève. La réduction de la biomasse végétale est une réponse commune généralement observée chez les plantes exposées à des niveaux élevés de Cu (**Elisa et al. 2007 ; Andrade et al. 2010**), le Cu a induit une réduction significative de la biomasse du soja (>100 ppm Cu) et du pois chiche (>60 ppm Cu) (**Adhikari et al., 2012**).

L'effet de la toxicité du Cu est principalement sur la croissance et la morphologie des racines car le Cu tend à être fortement absorbé par les racines des plantes et peut être transférée vers la partie aérienne (**Kabata-Pendias, 2011**). Un excès de cuivre provoque un endommagement de l'ADN, une altération chromosomique et une réduction de l'indice mitotique dans les cellules (**Kumar et al., 2021**). l'excès de cuivre, stocké dans les vacuoles des cellules situées sous l'endoderme des racines pour limiter le transfert du cuivre vers les parties aériennes, peut provoquer des ruptures au niveau des racines qui sont alors coupées en deux (**Kopittke et al., 2011**). Ces modifications racinaires provoquent une altération de la perméabilité des membranes plasmiques, ce qui conduit à une perturbation généralisée de l'alimentation de la plante (**Kabata-Pendias, 2011**).

Malgré ces effets néfastes de l'excès de Cu, les plantes de la fève traitées n'ont pas présenté de symptômes de chlorose et nécrose. Sous la toxicité du Cu, aucune nécrose n'a été observée chez *Zea mays* (**Reckova et al., 2019**), *Rhodes grass* (**Sheldon et Menzies, 2005**), *Solanum nigrum* L. (**Fidalgo et al., 2013**) et *Cannabis sativa* (**Elisa et al., 2007**).

### **III.2.2 Paramètres physiologiques**

#### **III.2.2.1 Pigments photosynthétiques**

Les résultats enregistrés ont révèlent une réduction des teneurs en pigments photosynthétiques au fur et à mesure que les doses de cuivre augmentent, ces réductions sont très affectées par la toxicité du cuivre et elles deviennent significatives à partir de la dose 400 ppm de Cu. Les résultats présentés ont montré également que :

- La diminution de la chlorophylle **a** est liée à la variabilité variétale, La variété V1 est plus sensible à l'augmentation des doses de cuivre, et la réduction la plus importante de la chlorophylle a est enregistrée à la dose 1000 ppm de Cu (67 et 56 % respectivement pour la variété V1 et V2),

- La chlorophylle **b** a diminué en fonction de l'augmentation de la dose de cuivre, la diminution de la teneur en chlorophylle **b** atteint son maximum à la dose 1000 ppm de cuivre (82.7% pour V2),
- La diminution de la teneur en caroténoïdes est également liée à la variabilité variétale, les teneurs enregistrées pour la variété Sidi Aïch sont supérieures à celles enregistrées par la variété Super Aguadulce. La teneur la plus faible en caroténoïdes est enregistrée à la dose de 1000 ppm chez la variété V1 (46,21%), et à la dose de 800 ppm chez la variété V2, (53,36%).

Ces résultats concordent avec d'autres travaux montrant des perturbations de la photosynthèse dues à la toxicité du cuivre chez *Citrus grandis* (Wu et al., 2021), *Corchorus capsularis* L. (Parveen et al., 2020), *Hordeum vulgare* L (Vassilev et al., 2013)

Nazir et al., (2019) ont signalé une diminution importante de contenu en pigments photosynthétiques chez *Solanum lycopersicum* L. (à la dose 100 ppm de Cu pendant 40 jours). Gong et al., (2019) ont rapporté également que l'application de différentes doses de cuivre (100 à 1000 mg/l) a provoqué des diminutions des teneurs en chlorophylle a (42%) et en chlorophylle b (64%) dans les feuilles de l'épinard, par contre la teneur en caroténoïdes augmente en fonction de l'augmentation des doses de cuivre. Hossain et al., (2020) ont observé que l'application du cuivre au milieu de culture (0.1-3 mM CuSO<sub>4</sub>. 5H<sub>2</sub>O) chez la lentille a occasionné des diminutions très importantes des pigments photosynthétiques (Chlorophylle **a**, **b** et caroténoïdes).

L'exposition des plantes à des niveaux élevés de Cu peut affecter les facteurs liés à la photosynthèse des plantes tels que l'efficacité du PSII, la diffusion du dioxyde de carbone, la formation de ROS, le transport d'électrons et la photo-respiration (Baldi et al., 2018; Ameh et Sayes, 2019; Marcec et al., 2019).

L'accumulation excessive de Cu dans les tissus végétaux peut perturber la structure du chloroplaste et provoque des altérations des constituants de la membrane de thylakoïde (Rehman et al., 2019a). Chez les plantes exposées à de fortes concentrations de Cu, il a été démontré que les activités métaboliques sont perturbées, telles que la perte de l'intégrité des chloroplastes et des changements dans la composition de la membrane plastidiale (Quartacci et al., 2000; Adrees et al., 2015). Le Cu inhibe à la fois le PS I et le PS II, où le PS II s'est avéré très sensible à des niveaux élevés de Cu (Yruela, 2013). Un taux élevé de Cu a entraîné

une réduction de la fluorescence chlorophyllienne, bloquer le transport des électrons photosynthétiques et inhiber la photophosphorylation (**Gonzalez-Mendoza et al., 2013**). De plus,  $\text{Cu}^{2+}$  se lie aux groupements thiols (-SH) ou remplace  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  ou  $\text{Mg}^{2+}$  dans les protéines chloroplastiques, modifiant ainsi la composition ionique au centre de la protéine, de sorte qu'elle devient inactive ou instable et subit une dégradation, ce qui entraîne une diminution des teneurs en chlorophylle. (**Maksymiec, 1998 ; Demidchik et al., 2001**).

### III.2.2.2 Protéines

Les résultats ont montré une diminution significative des taux de protéines en fonction de l'accroissement des doses de cuivre appliquées dans le substrat. La diminution de la teneur en protéines est très importante à la dose 1000 ppm. Les résultats obtenus par **Liu et al., (2016)**, ont montré une diminution de 15 % de la teneur en protéines sous l'effet du cuivre (50 mg/kg de Cu pendant 60 jours) chez *Catharanthus roseus* L. (plante médicinale).

Chez les plantes *Solanum nigrum* L. exposées aux 150 et 200 mg/l de cuivre, la diminution de la teneur en protéines atteint respectivement à 19 et 52% (**Abdel-Wahab et al., 2019**). Chez *Capsicum annum* L. (piment), l'application du cuivre à différentes doses (0,1-0,2 mM de  $\text{Cu SO}_4$ ) au milieu de culture, a provoqué une réduction de plus de 75% de la teneur en protéines par rapport au témoin. (**Islek et Unal, 2015**).

**Rout et al., (2013)** ont rapporté que la teneur en protéines total a été augmentée par le stress de Cu jusqu'à une certaine limite puis diminuée. Le mécanisme par lequel le Cu affecte la teneur en protéines est complexe et nécessite une étude plus approfondie. La protéomique est une approche puissante pour élucider les réponses compliquées des plantes à des environnements défavorables (**Rose et al., 2004**). Les protéines sont les principales cibles des métaux lourds. Soit ils forment un complexe avec des chaînes latérales fonctionnelles de protéines, soit ils déplacent les ions essentiels des métalloprotéines, entraînant une altération des fonctions physiologiques (**Tamás et al., 2014**). De plus, les métaux lourds interfèrent avec les conformations natives des protéines en inhibant le processus de repliement des protéines naissantes ou non natives en provoquant une déficience quantitative des protéines affectées et par la formation d'agrégats protéotoxiques (**Bierkens, 2000 ; Tamás et al., 2014**). De plus, le stress dû au cuivre provoque également une production accrue de ROS, ce qui entraîne une détérioration des macromolécules des plantes, notamment les protéines (**Sirhindi et al., 2015**).

**III.2.2.3 Teneur relative en eau**

Les résultats ont montré que l'application des doses croissantes de cuivre dans le milieu s'accompagne par une réduction de la teneur relative en eau des feuilles de la fève. Cette réduction est significative à partir de la dose 400 ppm, et elle atteint plus de 29% pour les deux variétés à la dose de 1000 ppm. Les résultats ont montré également que les valeurs moyennes enregistrées pour la variété Super Aguadulce sont sensiblement supérieures à celles enregistrées par la variété Sidi Aïch.

Ces résultats s'accordent avec des travaux antérieurs (**Cuba-Díaz et al., 2017 ; Martínez et al., 2011 ; Slama et al., 2018 ; Malinowska et al., 2018**). La diminution de la teneur relative en eau sous l'effet du cuivre est signalée chez diverses cultures, **Mostofa et al., (2015)**, ont révélé une réduction de la TRE chez le riz avec une synthèse intense de la proline, qui joue un rôle osmoprotecteur contre les perturbations osmotiques dans les cellules végétales causées par divers stress abiotiques, y compris le stress des métaux lourds. Sur la laitue, les travaux de **Shiyab (2018)**, ont montré une réduction de la TRE sous l'effet de stress de cuivre, cette réduction est due aux effets nocifs de cuivre sur la perméabilité de la membrane plasmique des cellules (**Ohsumi et al., 1988**). Sur le tournesol (*Helianthus annuus* L.), **Kastori et al., (2008)** ont révélé une diminution de la transpiration et de la TRE (19%) avec une augmentation de la teneur en proline dans les feuilles sous l'effet du cuivre ( $10^{-6}$  M de Cu). la diminution de la teneur relative en eau indique que les concentrations excessives de cuivre ont réduit l'absorption et le transport de l'eau vers la partie aérienne de la plante (**Rucinska-Sobkowiak, 2016**).

La teneur en eau des pousses et des racines a diminué de manière significative dans les plantes *d'Erica australis* L traitées par le Cu (**Trigueros et Rossini-Oliva, 2021**). Ce phénomène était particulièrement remarquable dans les feuilles des plantes à la plus forte concentration de Cu, reflétant l'interférence du métal dans l'absorption et le transport de l'eau par les racines (**Trigueros et Rossini-Oliva, 2021**). Les teneurs en eau plus faibles dans les parties aériennes pourraient être liées à la croissance réduite des racines et/ou une conséquence des changements induits dans les protéines de transport de l'eau (**Rucinska-Sobkowiak, 2016**) et des dommages directs des membranes cellulaires des racines (**Hall, 2002**).

Les métaux lourds influencent l'apport d'eau de la partie aérienne de la plante en raison de l'inhibition de la transpiration en diminuant la taille des feuilles et l'épaisseur du limbe, réduisent les espaces intercellulaires, affectent la densité des stomates et diminuent leur

ouverture (**Rucinska-Sobkowiak, 2016**). L'ABA est bien connu pour sa capacité à stimuler la fermeture des stomates. La toxicité du cuivre a augmenté les concentrations d'ABA, ce qui a stimulé la fermeture des stomates et réduit la perte d'eau par transpiration (**Wu, 2021**).

#### **III.2.2.4 Proline**

La teneur en proline dans les feuilles chez la fève augmente proportionnellement avec la concentration de cuivre, cette augmentation est significative à partir de la dose 400 ppm de cuivre. L'accumulation de la proline est plus importante chez la variété Super Aguadulce comparativement à celle de la variété Sidi Aïch.

Ces résultats sont concordants avec les travaux de **Chai et al., (2014)** réalisés sur les plantes de *Spartina alterniflora* qui ont montré une augmentation de la teneur en proline dans les feuilles des plantes exposées aux 800 et 1000 mg Cu/kg du sol, de même **Noreen et al. (2018)** a obtenu une augmentation de la proline (**72,9%**) sous l'action du cuivre chez le blé (*Triticum aestivum* L.). **Azooze et al., (2012)** ont également obtenus une augmentation jusqu'à 190% de la teneur en proline chez le blé à la dose de 20µM de cuivre dans le sol. L'accumulation de la proline est signalée chez *Medicago truncatula* (**Filippou et al., 2013**), chez *Oryza sativa* (riz) (**Mostofa et al., 2015**) chez *Coffea arabica* et *Canavalia ensiformis* (**Andrade et al, 2010**) et chez *Solanum nigrum* (**Khateeb et Al-Qwasemeh, 2014**).

La proline est considérée comme un osmorégulateur dans la tolérance des plantes au stress oxydatif induit par le cuivre (**Khateeb et Al-Qwasemeh, 2014 ; Sharma et al., 2019**). L'accumulation de la proline dans la cellule permet la protection de la membrane cellulaire et participe à l'ajustement osmotique, protection des enzymes, chélation et détoxification des métaux lourds, régulation de l'acidité cytosolique et piégeage des espèces réactives de l'oxygène (**Hayat et al., 2012 ; Sharmila et Pardha Saradhi, 2002**). Cet acide aminé est considéré comme un stabilisateur de macromolécules (**Parys et al., 2014**), leur accumulation dans le système végétal a entraîné une amélioration du système photosynthétique (**Shahid et al., 2014b**). Selon **Hayat et al., (2012)** la proline joue un rôle important dans le maintien d'un rapport approprié de NADP/NADPH pour assurer une bonne fixation du carbone.

#### **III.2.2.5 Sucres solubles**

La teneur en sucres solubles est élevée dans les feuilles de la fève sous l'effet du cuivre comparativement à la plante témoin. Cette augmentation est significative à partir de la dose 400

ppm de cuivre, elle atteint son maximum à la dose 1000 ppm de cuivre. La variété Sidi Aïch accumule plus de sucre soluble comparativement à la variété Super Aguadulce.

**Alaoui-Sossé et al. (2004)** ont montré que l'exposition du concombre au cuivre conduit à l'accumulation des sucres solubles dans les feuilles, l'inhibition de la croissance diminue l'exportation des glucides des feuilles, ce qui entraîne une accumulation d'amidon et de saccharose et une inhibition en retour de la photosynthèse (**Vinit-Dunand et al., 2002**).

Certaines études ont détectées une diminution de la teneur en sucres solubles sous l'effet de stress de cuivre (**Kumar et al., 2012 ; Singh et al., 2007**), contrairement, d'autres études (**Duraipandian et al., 2016 ; Ashraf et al., 2017**) ont signalé une augmentation des sucres solubles en fonction de l'intensité du stress au cuivre appliqué.

Les cellules végétales accumulent activement certains solutés solubles, tels que les sucres solubles, ce qui vise à réduire le potentiel osmotique intracellulaire pour assurer l'approvisionnement normal en eau dans des conditions de stress aux métaux lourds et maintenir les fonctions physiologiques normales des cellules (**Jia et al., 2012**).

Les sucres solubles sont synthétisés en réponse au stress osmotique, agissant comme des osmoprotecteurs qui stabilisent les membranes cellulaires et maintiennent la turgescence (**Peshev & Ende, 2013**). Dans des conditions de stress léger qui inhibent la croissance des plantes mais permettent toujours la photosynthèse (partielle), une accumulation de disaccharides, de RFO et de fructanes est couramment observée (**Keunen et al., 2013**). Chez les plantes, l'accumulation de raffinose est liée au processus d'osmoprotection dans les plantes, le raffinose joue d'autres rôles dans la tolérance des plantes au stress abiotique en tamponnant les ROS (agissant comme un antioxydant soluble) (**Nishizawa-Yokoi et al., 2008**).

Les propriétés protectrices des sucres solubles lors du stress oxydatif étaient généralement attribuées à une signalisation directe ou indirecte déclenchant la production de piègeurs de ROS et/ou d'enzymes antioxydants (**Ende et Valluru, 2009**). Cependant, il a été montré que les sucres puissent agir comme de véritables capteurs de ROS dans la plante, en particulier lorsqu'ils sont présents à des concentrations plus élevées (**Keunen et al., 2013**). Les variations des taux de sucres solubles sont capables de modifier l'expression de gènes impliqués dans les réponses au stress abiotique, tels que la superoxyde dismutase (**Price et al., 2004**). Le glucose a l'avantage supplémentaire d'être une molécule de signalisation et antioxydante et il peut atténuer plusieurs types de stress abiotique (**Mostofa et al., 2014**). **Sperdouli et**

**Moustakas (2012)** ont rapporté une accumulation et une interaction d'une augmentation de la proline et des sucres solubles maintenant une protection antioxydante élevée dans les feuilles des plantes soumises à un stress métallique.

**Yusuf et al., (2021)** ont montré que le traitement exogène avec le glucose (20 mM) ont amélioré de manière significative la croissance, la performance photosynthétique et la capacité antioxydante des plantes de concombre stressés avec le cuivre.

### **III.2.3 Système anti-oxydant**

#### **III.2.3.1 Polyphénols et Flavonoïdes (TPC et TFC)**

Les résultats ont montré une augmentation des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes proportionnellement avec les doses appliquées du cuivre. Les accumulations des polyphénols totaux et les flavonoïdes dans les feuilles sont significatives à partir de la dose 400 ppm de cuivre, elles atteignent leur maximum aux doses de 800 et 1000 ppm de cuivre. L'accumulation du contenu en polyphénols et flavonoïdes est conditionnée par le facteur variétal, ou la variété Super Aguadulce accumule plus de ces métabolites secondaires que la variété Sidi Aïch.

Les teneurs en polyphénols (TPC) sont élevées dans les feuilles de la fève sous l'effet du cuivre comparativement aux plantes témoins. Ces résultats sont concordants avec ceux de **Kisa et al. (2016)**, où il a observé une augmentation des polyphénols sous l'effet du stress de cuivre chez *Zea mays*, **Sgherri et al., (2013)** qui ont signalé une augmentation de plus de 31 et 46% de TPC chez *Raphanus sativus* traitée respectivement par 5 et 15  $\mu\text{M}$  de cuivre. **Diaz et al., (2001)**, ont constaté que le traitement du *Capsicum annuum* L. avec du cuivre à une concentration de 50  $\mu\text{M}$  de  $\text{CuSO}_4$  augmente la teneur totale en TPC à 240 % dans les hypocotyles par rapport au témoin.

La production de flavonoïdes totaux (TF) chez la fève a augmenté avec la concentration de cuivre, indiquant que les voies de biosynthèse des flavonoïdes ont été stimulées par le stress de cuivre. **Zhu et al., (2020)** ont montré que le stress au Cu (50 ,100 et 200  $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{CuCl}_2$ ) augmente significativement ( $p < 0.05$ ) les teneurs en flavonoïdes chez *Belamcanda chinensis*, cette augmentation est proportionnelle avec le temps (7, 14, 21, 28, 35 et 42 jours). **Amri et al., (2017)** ont détecté des augmentations significatives des teneurs en flavonoïdes et polyphénols chez *Marrubium vulgare* avec l'augmentation des doses de cuivre (200 et 300  $\text{mg/l}$ ). **Manan**

**et al., (2015)** ont signalé également une accumulation significative des flavonoïdes chez *Orthosiphon stamineus* sous l'effet de stress de cuivre et plomb.

les métaux lourds, peuvent intensifier les processus de production d'ERO conduisant au stress oxydatif (**Sytar et al., 2013, Cuypers et al., 2010**). Devant cette perturbation, l'accumulation de substances phénoliques tels que les polyphénols et les flavonoïdes, dans les tissus végétaux est considérée comme une mécanismes de défense contre le stress oxydatif (**Ahanger et al., 2020**). Les composés phénoliques sont des molécules biologiques actives possédants un ou plusieurs cycles benzéniques portant un ou plusieurs fonctions hydroxyles (**Dar et al., 2017**).

L'action antioxydante des composés phénoliques est due à leur forte tendance à chélater les métaux et détoxifier les radicaux libres (**Ahanger et al., 2020 ; Bartwal et al., 2013; Nasim et Dhir 2010**). Les composés phénoliques possèdent des groupes hydroxyle et carboxyle, capables de se lier au cuivre (**Jung et al., 2003**). Les phénols, en particulier les flavonoïdes, peuvent être oxydés par la peroxydase, et agissent dans le système de piégeage du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, contre la contamination par les métaux lourds. Ils peuvent supprimer la réaction de Fenton induite par le superoxyde, qui est considérée comme la source la plus importante de ROS (**Michalak, 2006**).

### **III.2.3.2 Catalase et Péroxydase**

Les résultats trouvés ont dévoilé une augmentation de l'activité enzymatique proportionnellement avec les doses appliquées du cuivre.

L'activité catalase (CAT) a augmenté dans les feuilles de la fève sous l'effet du stress métallique comparativement à la plante témoin, cette augmentation est très importante à partir de la dose 400 ppm de cuivre, et atteint son maximum à la dose de 800 et 1000 ppm de cuivre (85.8% pour V1 et plus de 63.2% pour V2).

Pour la peroxydase (GPx), les résultats ont montré également une augmentation de son activité en fonction de l'augmentation des doses de cuivre dans le substrat, cette augmentation est significative à partir de la dose 400 ppm de cuivre, et elle atteint son maximum aux doses de 800 et 1000 pm de cuivre. L'évolution de cette activité enzymatique est importante chez la variété Sidi Aïch que chez la variété Super Aguadulce.

Ces résultats sont concordants avec ceux des travaux de **Saleem et al., (2020)**, où ils ont observé une augmentation l'activité POD sous l'effet du cuivre (600 ppm) chez *Linum usitatissimum*. De plus, **Sánchez-Pardo et al., (2012)** ont été rapporté que l'activité POD augmente chez le lupin blanc et le soja exposés à 192 µM de Cu pendant 35 jours. (**Mei et al., 2015**) ont été remarquée également une augmentation significative des activités POD et CAT dans les feuilles et les racines des génotypes de coton sous stress de cuivre (100 ppm pendant 4 jours). L'excès de cuivre provoque une augmentation de l'activité CAT chez le maïs (**Liu et al., 2018a**), la tomate et le concombre (**Işeri et al., 2011**) et chez le pois chiche (**Kumar et al. 2014**).

Lors de l'exposition des plantes à des concentrations élevées de cuivre, la réponse de défense antioxydante des plantes augmente en raison de la production et de l'accumulation des ROS (**Kumar et al., 2021**). une concentration élevée de Cu active des gènes de défense, qui stimulent davantage les enzymes antioxydantes telles que CAT, SOD, APOX, GPX, etc., pour piéger les radicaux libres et combattre les effets néfastes du stress (**Adrees et al., 2015**). L'activité SOD dismutase les ions superoxydes et les convertit en oxygène et en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). L'activité CAT favorise la détoxification du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produit par la SOD (**Sidhu et al., 2020**). Les POD sont une autre famille d'enzymes antioxydantes impliquées dans la conversion de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et en oxygène (**Hu et al., 2018**). Certaines études antérieures ont proposé une augmentation de l'activité POD comme indication de la décomposition de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans les plantes (**Hu et al., 2018; Liu et al., 2018b**).

La réponse des plantes au stress oxydatif dépend également des espèces végétales et des cultivars (**Yruela 2013 ; Fidalgo et al., 2013**). Par exemple, l'augmentation de la concentration de Cu a augmenté l'activité de la SOD dans les feuilles et les racines de l'ail et du maïs (**Meng et al., 2007 ; Liu et al., 2014**) et a diminué l'activité peroxydase (POD) dans les feuilles d'ail (**Meng et al., 2007**). Les enzymes antioxydantes sont considérées comme le modérateur des dommages oxydatifs, offrant ainsi une protection aux biomolécules contre le stress induit par le Cu (**Chandrasekhar et Ray, 2017**).

#### **III.2.4 Accumulation et translocation du cuivre**

L'accumulation de cuivre dans de la fève augmente progressivement avec les doses croissantes de ce métal dans le substrat de culture, cette accumulation est significative à partir de la dose 200 ppm de cuivre et atteint son maximum à la dose de 1000 ppm de Cu dans les deux parties de la fève. La teneur en cuivre accumulée dans la partie racinaire est plus

importante que celle enregistrée dans la partie aérienne chez les deux variétés étudiées, avec un indice de translocation de cuivre inférieur à 1 pour toutes les concentrations appliquées du cuivre.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Chinmayee et al., (2012)**, qui montrent que les racines de *Amaranthus spinosus* accumulent plus de cuivre que la tige et les feuilles suite à une application des doses de 60, 200 et 300 mM de cuivre dans le sol. Ainsi **Elleuch et al. (2013)** ont indiqué que les plantes de fenugrec présentent un niveau de cuivre plus important dans les racines que dans les pousses suggérant que le métal s'accumule immédiatement dans les racines, plus tard dans la tige et les feuilles. **Mahmud et al., (2013)** ont montré également une accumulation de cuivre par *Abelmoschus esculentus L*, *Basella alba L*, *Solanum lycopersicum L* et *Triticum aestivum L* après une application de 25, 50, 75 et 100  $\mu$ M de cuivre.

**Gharbi et al., (2005)** ont étudié l'accumulation de Cu dans la laitue et les épinards, ils ont montré que la laitue a un potentiel relativement plus élevé d'absorption et de translocation de Cu que les épinards. Dans la laitue, l'accumulation de Cu était plus élevée dans les racines que dans les pousses, et 60 à 80 % du Cu total de la plante se trouve dans les racines.

L'absorption et l'accumulation de Cu dans la plante (racines et pousses) dépendent principalement du niveau et biodisponibilité de Cu dans le sol, des conditions de croissance et de l'espèce végétale (**Cambrollé et al., 2013b**). Les ions de cuivre sont fortement accumulés dans les racines car le Cu a tendance à être fortement absorbé par les racines des plantes et n'est pas facilement transporté vers les parties aériennes de la plante (**Chen et al., 2015**).

Le Cu absorbé par les plantes de la fève a été retenu dans les racines, principalement aux concentrations les plus élevées (FT<1). Ce comportement est utilisé par de nombreuses plantes comme un mécanisme de tolérance aux métaux lourds pour réduire la translocation du métal vers la partie aérienne et pour éviter les dommages causés par la toxicité du métal lourd sur l'appareil photosynthétique présent dans les feuilles (**Marco et al., 2016**). Une fois que les plantes ne sont pas mortes et ont encore accumulé le métal dans les racines, alors que les plantes sont souffertes avec la présence d'un excès de cuivre (**Marques et al., 2018**). Le facteur de translocation (FT) est de l'ordre de 0,35 à 0,52 au niveau des traitements 200, 600, 800 et 1000 ppm de Cu. Selon **Deng et al. (2004)** le FT supérieur à 1 signifie une translocation du métal depuis les racines vers les feuilles ce qui n'est pas constaté dans notre étude où le Cu est davantage accumulé dans les racines.

La tolérance au cuivre est liée à la capacité de la plante à accumulé du métal dans ses racines et empêcher efficacement sa translocation vers les tissus photosynthétiques (**Cambrollé et al., 2013b**). Plusieurs études ont révélé que le Cu absorbé reste localisé dans les parois cellulaires ou les vacuoles au niveau des racines, cet mécanisme considéré comme une stratégie pour faire face au l'excès de Cu (**Kumar et al., 2021 ; Trigueros et Rossini-Oliva, 2021 ; Sharma et al., 2016**). D'autres mécanismes tels que l'accumulation de Cu dans des vésicules cytoplasmiques sont également observés (**Liu et Kottke, 2004**). Il existe des familles de gènes qui jouent un rôle clé dans le contrôle du stress dû au cuivre (**Lombardi et Sebastiani, 2005**), et certaines d'entre elles sont liées à la formation de l'actine et du cytosquelette et à l'activité du superoxyde dismutase dans les tissus racinaires (**Vidal et al., 2021**).

Le début de la toxicité du cuivre définie comme une diminution de 10 % du rendement en matière sèche de la plante, selon l'espèce végétale, cette toxicité est observée à des concentrations de cuivre qui comprises entre 20 et 30 mg kg<sup>-1</sup> de MS dans la partie aérienne, et comprises entre 100 et 400 mg Cu kg<sup>-1</sup> de MS dans les racines des plantes (**Ballabio et al., 2018 ; Oorts, 2013 ; Kabata-Pendias et Pendias, 2011 ; Degryse et al., 2008 ; Sheldon et Menzies, 2005** ). Nos résultats indiquent que la diminution de la biomasse sèche de la fève est significative à partir de la dose de 400 ppm de cuivre, ou on a enregistré des abaissements importants (plus de 10% par rapport au témoin). D'autre part, l'accumulation de cuivre dans la fève devient toxique à partir de la dose 400 ppm de Cu, ou elle dépasse la concentration normale du cuivre dans la plante (>40 mg/Kg MS dans la partie aérienne). L'addition de la concentration 200 ppm de cuivre n'affecte pas significativement la croissance de la plante, l'accumulation du cuivre dans les partie aérienne dans cette concentration est comprise entre 17 à 19 mg/kg. MS et entre 37 à 41 mg/kg de MS dans les racines de la fève, ce qui signifie que cette concentration n'est pas stressante pour la fève.

Le cuivre est un oligo-nutriment essentiel pour la croissance normale des plantes, mais il devient toxique lorsqu'il dépasse la limite de la toxicité et conduit à de mauvaises performances de croissance des plantes avec une perte de rendement des cultures (**Alengebawy et al., 2021**). Une concentration plus élevée de Cu a affecté la croissance des racines et des pousses en raison de l'inhibition de l'élongation cellulaire et de la réduction de la division cellulaire (**Adrees et al., 2015**). Il est également rapporté que l'excès de Cu affecte les processus cellulaires vitaux tels que la photosynthèse, la respiration et la teneur en eau relative, qui conduisent à une biomasse réduite (**Kumar et al., 2021**). L'effet toxique du Cu sur les performances de croissance était principalement lié à une teneur réduite en chlorophylle, à une

absorption minérale altérée et à des niveaux hormonaux perturbés dans les plantes traitées au Cu (Angulo-Bejarano et *al.*, 2021).

# ***CONCLUSION GENERALE***



## Conclusion générale

---

La toxicité du cuivre est un problème important pour la fève. Dans la présente étude, l'excès de cuivre dans le substrat de culture affecte tous les paramètres étudiés de la fève, ou il agit négativement sur la croissance et le développement de la plante. Ces effets nocifs du cuivre s'expliquent par sa tendance à s'accumuler dans les tissus de la fève avec des concentrations toxiques en causant des perturbations morpho-physiologiques et enzymatiques de la fève. Les principaux effets phytotoxiques du cuivre sur la fève ont été résumés ci-dessous :

- La toxicité du cuivre provoque des réductions importantes des paramètres morphologiques de la fève. Cependant, l'excès du cuivre dans le substrat (400 à 1000 ppm) a diminué fortement la hauteur des tiges, le nombre de folioles, la surface foliaire et le volume racinaire. La diminution de ces paramètres est liée avec l'intensité du cuivre, et atteindre plus de 45% pour toutes ces paramètres.
- La biomasse végétale est un critère important pour déterminer l'effet de stress métallique sur les plantes. L'excès du cuivre engendre une diminution de la matière sèche de la fève. Cet effet dépressif du cuivre est plus marqué sur les racines que sur les parties aériennes.
- Le stress de cuivre perturbe la photosynthèse chez la fève, les concentrations élevées du cuivre (400 à 1000 ppm) sont à l'origine de la diminution des teneurs en chlorophylle a, b et caroténoïdes. La chlorophylle b apparaît être plus sensible que la chlorophylle a, à la toxicité du Cu.
- La teneur en protéines totales est affectée par la toxicité de cuivre entraînant une diminution de la valeur nutritionnelle de la fève.
- L'état hydrique de la fève présentée par la teneur relative en eau est également diminué sous l'effet de cuivre.
- La toxicité du cuivre stimule la production des osmorégulateurs dans les feuilles. La proline et les sucres solubles sont fortement accumulés à partir de la dose 400 ppm de cuivre, chez les deux variétés de la fève.
- La réponse anti oxydante de la fève (l'activité enzymatique et non enzymatique) augmente en raison de l'augmentation de stress de cuivre. La surproduction des polyphénols et des flavonoïdes sont importantes chez la variété super Aguadulce et atteint respectivement à 94 et 150 % à la dose 1000 ppm de cuivre. L'activité peroxydase et catalase est stimulée pour éliminer les radicaux libres et lutter contre les effets néfastes du stress de cuivre, la sur activation de ces enzymes est importante pour les doses de 800 et 1000 ppm de cuivre, par une augmentation qui atteindre

## Conclusion générale

---

plus de 59 % pour l'activité peroxydase (V2) et plus de 85 % pour l'activité catalase (V1).

- Le cuivre est accumulé dans les tissus de la fève avec des niveaux plus élevés dépassant la concentration normale de cuivre dans les plantes. La translocation du cuivre vers les parties aériennes est limitée par une forte accumulation du Cu dans les racines ( $FT < 1$ ), cette accumulation permet de réduire les dommages néfastes du Cu sur les organes aériens. La concentration 400 ppm est remarquée comme une dose critique de la toxicité du cuivre. Au-delà de cette dose, la fève souffre la toxicité du cuivre, sa matière sèche a diminué de 10 à 23 %, les pigments photosynthétiques étant réduites dans les deux variétés. De même, la teneur totale en protéines a enregistré une diminution de 21 % (V2). Pour que la plante s'adapte à vivre sous le stress du cuivre, elle s'accumule des niveaux élevés d'osmo-régulateurs avec une stimulation du système défensif antioxydant enzymatique et non enzymatique.
- L'application de la concentration 200 ppm de cuivre n'affecte que faiblement la croissance de la plante, le majeure partie du cuivre absorbé est accumulé dans les racines (70%) ce qui permet de préserver les organes photosynthétiques à l'excès de cuivre.

Les deux variétés de la fève ont présenté des réponses variétales très distinctes, selon les paramètres étudiés. Ces réponses peuvent être résumées comme suit :

- La variété Sidi Aïch présente une sensibilité plus importante à la toxicité du cuivre, particulièrement en réponse aux paramètres morphologiques foliaires (nombre et surface foliaires).
- Sur le plan physiologique, la variété Sidi Aïch montre une sensibilité plus élevée en réponse au stress de cuivre pour la teneur en Chl a, protéines, la teneur relative en eau et la teneur en proline. Par contre, la variété Super Aguadulce est plus sensible à la toxicité du cuivre, à l'expression des paramètres des caroténoïdes et teneur en sucre solubles.
- Sur le plan anti-oxydant, la variété Sidi Aïch montre une sensibilité plus importante au cuivre pour l'expression des paramètres antioxydants non enzymatiques (TPC et TFC). Tandis que, pour l'activité peroxydase, la variété Super Aguadulce a présenté une sensibilité plus élevée au stress de cuivre, pour l'activité catalase, la réponse des deux variétés de la fève au cuivre est similaire.
- Pour l'accumulation du cuivre dans les tissus de la plante, la variété Super Aguadulce a donné des valeurs supérieures que la variété Sidi Aïch pour

## ***Conclusion générale***

---

l'accumulation du cuivre dans la partie aérienne. Pour la partie racinaire, la variété Sidi Aïch accumule davantage le cuivre que la variété Super Aguadulce.

## Conclusion générale

**Tableau 28:** Principaux résultats de l'effet du cuivre sur le comportement morpho-physiologiques et enzymatiques de la fève (V1 et V2). (a, b, c,... : groupes homogènes)

			0	200	400	600	800	1000
Paramètres morphologiques	Hauteur de la tige	V1		a	b	c	c	d
		V2	a	a ↘	b ↘	c ↘	c ↘	d ↘
	Nombre de folioles	V1 <sup>b</sup>		a	b	c	c	d
		V2 <sup>a</sup>	a	a ↘	b ↘	c ↘	c ↘	d ↘
	Surface foliaire	V1 <sup>b</sup>		a	b	c	d	e
		V2 <sup>a</sup>	a	a ↘	b ↘	c ↘	d ↘	e ↘
Volume racinaire	V1		a	a	b	b	b	
	V2	a	a	a	b ↘	b ↘	b ↘	
Poids sec. R et A	V1		a	b	c	c	d	
	V2	a	a	b ↘	c ↘	c ↘	d ↘	
Paramètres physiologiques	Chlorophylle a	V1 <sup>b</sup>	a	b	c	d	e	e
		V2 <sup>a</sup>	ab	b ↘	bc	d ↘	d ↘	e ↘
	Chlorophylle b	V1	a	a	bc	d	f	f
		V2	a	ab ↘	c	ef ↘	de ↘	f ↘
	Caroténoïdes	V1 <sup>a</sup>		a	b	c	d	d
		V2 <sup>b</sup>	a	a ↘	b ↘	c ↘	d ↘	d ↘
	Protéines	V1 <sup>b</sup>	bcd	bc	cd	ef	g	i
V2 <sup>a</sup>		b	a ↗	de	fg	g	ih	
TRE	V1 <sup>b</sup>		a	b	c	d	d	
	V2 <sup>a</sup>	a	a	b ↘	c ↘	d ↘	d ↘	
Proline	V1 <sup>b</sup>	e	e	b ↗	b ↗	b ↗	a ↗	
	V2 <sup>a</sup>	e	e	b ↗	b ↗	b ↗	a ↗	
Sucres solubles	V1 <sup>a</sup>	c	c	b ↗	a ↗	a ↗	a ↗	
	V2 <sup>b</sup>	c	c	b ↗	a ↗	a ↗	a ↗	
Paramètres enzymatiques	Polyphénols totaux (TPC)	V1 <sup>b</sup>	c	c	b ↗	b ↗	a ↗	a ↗
		V2 <sup>a</sup>	c	c	b ↗	b ↗	a ↗	a ↗
	Flavonoïdes (TFC)	V1 <sup>b</sup>	d	d	c ↗	e ↗	b ↗	a ↗
		V2 <sup>a</sup>	d	d	c ↗	e ↗	b ↗	a ↗
CAT	V1	d	d	c ↗	c ↗	b ↗	a ↗	
	V2	d	d	c ↗	c ↗	b ↗	a ↗	
POD	V1 <sup>a</sup>	d	d	c ↗	b ↗	a ↗	a ↗	
	V2 <sup>b</sup>	d	d	c ↗	b ↗	a ↗	a ↗	
Accumulation de de Cu. Racine	V1 <sup>a</sup>	f	e ↗	d ↗	c ↗	b ↗	a ↗	
	V2 <sup>b</sup>	f	e ↗	d ↗	c ↗	b ↗	a ↗	
Accumulation de de Cu. (P.A)	V1 <sup>b</sup>	f	e ↗	d ↗	c ↗	b ↗	a ↗	
	V2 <sup>a</sup>	f	e ↗	d ↗	c ↗	b ↗	a ↗	

**Perspectives**

Cette étude a permis de caractériser un problème environnemental sérieux qui concerne la toxicité du cuivre sur la fève. Au terme de cette étude, certains paramètres intéressants méritent d'être développés profondément dans le but de donner des réponses très précises pour le développement de la fève en Algérie dans l'objectif d'améliorer les rendements de cette culture. Pour cela il est nécessaire,

- Une étude sur des sites contaminés pour se rapprocher d'avantage des conditions naturelles, et définir les seuils de concentrations toxiques de cuivre in situ au lieu de se limiter à des tests de laboratoire, car notre expérimentation a été effectuée sous serre sur des temps limités et dans des volumes de substrat réduit.
- Utiliser les résultats obtenus pour informer les agriculteurs sur les concentrations appropriées du cuivre dans le sol afin de réduire l'accumulation et assurer une production agricole durable. Selon les résultats de la biomasse totale de la fève obtenus, les ions de cuivre ont tendance à créer des niveaux différentiels de la toxicité dans la plante, l'effet des niveaux faibles et élevés de cuivre sur la croissance de la fève est résumé dans le tableau suivant :

**Tableau 29:** Niveaux de la toxicité du cuivre sur la croissance de la fève (**Benouis, 2022**)

<b>Dose de Cu (Cu SO<sub>4</sub>)</b>	0	200	400	600	800	1000
<b>Niveau de la toxicité</b>	Témoin	Faible toxicité	<b>Début de la toxicité /Toxicité moyenne</b>	<b>Toxicité élevée</b>		<b>Toxicité très élevée</b>

- Il serait important d'étudier la spéciation et la biodisponibilité du cuivre dans le sol et la mobilité du Cu à l'intérieur de la plante, pour améliorer les connaissances sur les facteurs qui interviennent dans le transfert du cuivre vers les parties photosynthétiques.
- Nous recommandons aussi d'étudier le comportement de cuivre dans le système rhizosphérique, tel que l'étude de la microflore rhizosphérique et l'identification moléculaire des exsudats racinaires dans la condition de stress de cuivre.
- Il serait utile de tester d'autres espèces d'intérêt agronomique car ces études permettraient de définir le spectre d'accumulation et de toxicité du Cu en fonction

## ***Conclusion générale***

---

d'espèces étudiées et donc de mieux sélectionner des espèces à cultiver à moindre risque à la toxicité du cuivre.

- Il est très important de tester d'autres paramètres pour enrichir ce travail, tel que les paramètres anatomiques et chimiques, et pour approfondie cette étude il est important aussi de réaliser des études génétiques pour identifier les gènes impliqués dans la tolérance de stress de cuivre, et d'isoler et d'identifier les protéines liant au Cu par différentes approches protéomique (gels bidirectionnels 2D, séparation par chromatographie).

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

**Abdel-Ghany, SE., and Pilon, M. 2008.** MicroRNA-mediated systemic down regulation of copper protein expression in response to low copper availability in Arabidopsis. *J. Biol. Chem.* 283: 15932–15945. doi: 10.1074/jbc.M801406200.

**Abdel-Wahab, DA., Othman NARM., Hamada, AM. 2019.** Effects of copper oxide nanoparticles to *Solanum nigrum* and its potential for phytoremediation. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 137, 525–539. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01588-5>.

**Adekiya, AO., Agbede TM., Aboyeji CM., Dunsin O., Ugbe, JO. 2017.** Green manures and NPK fertilizer effects on soil properties, growth, yield, mineral and vitamin C composition of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* (in press). 18 , 218-223doi: 10.1016/j.jssas.2017.05.005.

**Adhikari, T., Kundu S., Biswas AK., Tarafdar JC., Rao, AS .2012.** Effect of copper oxide nano particle on seed germination of selected crops. *J Agric Sci Technol A* .2:815–823.

**Adrees, M., Ali S., Rizwan M., Ibrahim M., Abbas F., Farid M., Bharwana, SA. 2015.** The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. *Environ Sci Pollut Res.* 22:8148–8162.

**Agbenin, JO., Felix-Henningsen, P. 2004.** Dynamics of copper fractions and solubility in a savanna soil under continuous cultivation. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 68, 117–125

**Aguirre, G., Pilon, M. 2016.** Copper Delivery to Chloroplast Proteins and its Regulation. *Frontiers in Plant Science.* 6:1250. doi:10.3389/fpls.2015.01250

**Ahanger, MA, Bhat JA., Siddiqui MH., Rinklebe J., Ahmad, P. 2020.**Integration of silicon and secondary metabolites in plants: a significant association in stress tolerance. *Journal of Experimental Botany.*71:6758-6774. DOI: 10.1093/jxb/eraa291.

**Akinnifesi, TA., Asubiojo OI., Amusan, AA .2006.** Effects of fungicide residues on the physico-chemical characteristics of soils of a major cocoa-producing area of Nigeria. *Sci Total Environ.* 366:876–879

**Akujobi, CO., Odu NN., Okorodu, SI. 2012.** Bioaccumulation of lead by *Bacillus* species isolated from pig waste. *Journal of Research in Biology.* 2 : 83-9

**Alaoui-Sossé, B., Genet P., Vinit-Dunand F., Toussaint ML., Epron D., Badot, PM.2004.** Effect of copper on growth in cucumber plants and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. *Plant Sci.* 166:1213–1218.

**Alengebawy, A., Abdelkhalek ST., Qureshi SR., Wang, MQ. 2021.** Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications. *Toxics.* 9:42. doi: 10.3390/toxics9030042.

**Ameh, T., Sayes, CM. 2019.** The potential exposure and hazards of copper nanoparticles: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 71, 103220.

**Amri, B., Ben Kaab S., Gouia H., Martino E., Collina S., Ben Kaâb, L B. 2017.** Copper-induced changes in nutrient uptake, enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems in horehound (*Marrubium vulgare* L.). *Botanical Sciences.* 95(3), 565. doi:10.17129/botsci.778

**Anatole-Monnier, L. 2014.** Effets de la contamination cuprique des sols viticoles sur la sensibilité de la vigne à un cortège de bio-agresseurs. Thèse de doctorat, université de Bordeaux, pp 21.

**Andrade, SAL., Gratão PL., Azevedo RA., Silveira APD., Schiavinato MA., Mazzafera, P. 2010.** Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations. *Environ. Exp. Bot.* 68:198–207.

**Andrés-Colás, N., Sancenón V., Rodríguez-Navarro S., Mayo S., Thiele DJ., Ecker JR., Peñarrubia, L. 2006.** The Arabidopsis heavy metal P-type ATPase HMA5 interacts with metallochaperones and functions in copper detoxification of roots. *The Plant Journal.* 45(2), 225–236. doi:10.1111/j.1365-313x.2005.02601.x

**Angulo-Bejarano, PI., Puente-Rivera J., Cruz-Ortega, R. 2021.** Metal and Metalloid Toxicity in Plants: An Overview on Molecular Aspects. *Plants (Basel)*.10:635. doi: 10.3390/plants10040635

**Antoniadis, V., Shakoor MB., Al-Solaimani SG., Wang H., Bundschuh J., Rinklebe J., 2020.** A critical review on arsenic removal from water using biochar-based sorbents: The significance of modification and redox reactions. *Chemical Engineering Journal.* 396, 125195.

**Anwar, F., Alghamdi SS., Ammar MH., Siddique K., 2011.** An efficient in vitro regeneration protocol for faba bean (*Vicia faba* L.). *J. Med. Plants Res.* 5, 6460– 6467.

**Aouar-Sadli, M., Louadi K., Doumandji, SE. 2008.** Pollination of the broad bean (*Vicia faba* L. var. major) (Fabaceae) by wild bees and honey bees (Hymenoptera: Apoidea) and its impact on the seed production in the Tizi-Ouzou area (Algeria). *African Journal of Agricultural Research.* 3 (4): 266-272.

**Araújo, E., Strawn DG., Morra M., Moore A., Ferracciú Alleoni, LR. 2019.** Association between extracted copper and dissolved organic matter in dairy-manure amended soils. *Environmental Pollution.* 246, 1020-1026.

**Arias, M., Lopez E., Soto, B. 2005.** Copper distribution and fractionation in aggregate fractions from vineyard soils: Comparison with zinc. *Agrochimica.* 49 : 60-69.

**Ashraf, U., Kanu, AS., Deng, Q., Mo, Z., Pan, S., Tian, H., Tang, X. 2017.** Lead (Pb) toxicity; physiobiochemical mechanisms, grain yield, quality, and Pb distribution proportions in scented rice. *Front Plant Sci.* 8:259.

**Ashworth, DJ., Alloway, BJ. 2007.** Complexation of copper by sewage sludge-derived dissolved organic matter: Effects on soil sorption behaviour and plant uptake. *Water Air and Soil Pollution,* 182(1-4), 187-196.

**Assad, M. 2018.** Transfert des éléments traces métalliques vers les végétaux : mécanismes et évaluations des risques dans des environnements exposés à des activités anthropiques. Sciences agricoles. Thèse de doctorat. Université Bourgogne Franche-Comté. pp 25

**Austruy, A., Laplanche C., Mombo, S. 2016.** Ecological changes in historically polluted soils: Metal(loid) bioaccumulation in microarthropods and their impact on community structure. *Geoderma* 271:181–190. doi: 10.1016/j.geoderma.2016.02.011

**Azooze, MM., Elhamd MFA., Al-Fredan, MA, 2012.** Biphasic effect of copper on growth, proline, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of wheat (*Triticum aestivum* cv. Hasaawi) at early growing stage. *American Journal of Plant Sciences*. 6:688-694.

**Baize, D. (1997).** Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols: France. Institut national de la recherche agronomique, Paris.

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

**Baldi, E., Miotto A., Ceretta CA., Brunetto G., Muzzi E., Sorrenti G., Quartieri M., Toselli M., 2018.** Soil application of P can mitigate the copper toxicity in grapevine: physiological implications. *Scientia Horticulturae*. 238, 400-407.

**Ballabio, C., Panagos P., Lugato E., Huang J., Orgiazzi A., Jones A., Montanarella, L. 2018.** Copper distribution in European topsoils: an assessment based on LUCAS soil survey, *Sci. Total Environ*. 636: 282-29. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.268>.

**Barbosa, RH., Tabaldi LA., Miyazaki FR., Pilecco M., Kassab SO., Bigaton, D. 2013.** Foliar copper uptake by maize plants: effects on growth and yield. *Cienc Rural*. 43:1561–1568.

**Barceloux, DG., Barceloux, D. 1999.** Copper. *J. Toxicol. Clin. Toxicol*. 3, 217-230.

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

**Bartkowiak, A., Lemanowicz J., Lamparski, R. 2020.** Assessment of selected heavy metals and enzyme activity in soils within the zone of influence of various tree species. *Sci Rep*. 10, 14077. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69545-3>

**Bartwal, A., Mall R., Lohani P., Guru SK., Arora S. 2013.** Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. *J. Plant Growth Regul*. 32 (1), 216–232. <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9272-x>.

**Bazihizina, N., Colzi I., Giorni E., Mancuso S., Gonnelli, C. 2015.** Photosynthesizing on metal excess: Copper differently induced changes in various photosynthetic parameters in copper tolerant and sensitive *Silene paradoxa* L. populations. *Plant Science*. 232, 67-76.

**Benachour, K., Louadi K., Terzo, M .2007.** Rôle des abeilles sauvages et domestiques (Hymenoptera: Apoidea) dans la pollinisation de la fève (*Vicia faba* L. var. major) (Fabaceae) en région de Constantine (Algérie). *Ann. Soc. Entomol. Fr. (n.s.)*. 43 (2): 213-219.

**Benselhoub, A., Kharytonov M., Bounouala M., Chaabia R., Badjoudj, S. 2015.** Estimation of soil's sorption capacity to heavy metals in algerian megacities: Case of Algiers and Annaba. *INMATEH. Agricultural engineering*. 46 :2.

**Bérard, A., Capowiez L., Mombo S, 2015.** Soil microbial respiration and PICT responses to an industrial and historic lead pollution: a field study. *Environ Sci Pollut Res*. doi: 10.1007/s11356- 015-5089-z.

**Bierkens, JG. 2000.** Applications and pitfalls of stress-proteins in biomonitoring. *Toxicology*. 153, 61–72. doi: 10.1016/S0300-483X(00)00304-8.

**Bliefert, C., Perraud, R., 2001.** Chimie de l'environnement : eau, air, sol, déchets. De Boeck Université. 477p.

**Bouazizia, H., Hager J Geitmannb A., El Ferjani E. 2010.** Copper toxicity in expanding leaves of *Phaseolus vulgaris* L.: antioxidant enzyme response and nutrient element uptake. Ecotoxicology and Environmental Safety. 73, 1304-1308

**Boudia, H., Vassalo L., Hadjel M., Prudent P., Boudenne, JL. 2019.** Spatial contamination and health risks of heavy metal (loid)s in surface soils from a petrochemical complex in the north-eastern region of Algeria. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 16: 4707–4718.

**Bourelrier, PH., Berthelin, J. 1998.** Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion. Académie des Sciences, Rapport n°42 Août 1998, Lavoisier Tec & Doc, 440 pp.

**Boutigny, S.2009.** Quelques observations sur le rôle des ATPases à cuivre HMA1 et PAA1 dans le contrôle de l'homéostasie du cuivre chloroplastique. Thèse de doctorat. Biologie végétale. Université Joseph-Fourier.

**Bradford, MM.1976.** Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*. 72, 248-254. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

**Bradl, HB. 2005.** Heavy Metals in the Environment: Origin, Interaction and Remediation, Vol. 6, Elsevier, Amsterdam

**Bravin, M N. 2008.** Processus rhizosphériques déterminant la biodisponibilité du cuivre pour le blé dur cultivé en sols à antécédent viticole. Thèse de doctorat. Montpellier SupAgro. France

**Brink, M., Belay, G. 2006.** Ressources végétales de l'Afrique tropicale 1 : céréales et légumes secs, Prota, Pays bas, pp. 221-223.

**Buapet, P., Shah Mohammadi N., Pernice M., Kumar M., Kuzhiumparambil U., Ralph, P. 2018.** Excess copper promotes photoinhibition and modulates the expression of antioxidant-related genes in *Zostera muelleri*. *Aquatic Toxicology*. 207, 91-100.

**Cai, S., Xiong Z., Li L., Li M., Zhang L., Liu C., Xu, Z. 2014.** Differential responses of root growth, acid invertase activity and transcript level to copper stress in two contrasting populations of *Elsholtzia haichowensis*. *Ecotoxicology*. 23 (1), 76-91.

**Cambrollé, J., García Fernández JL., Ocete R., Figueroa E., Cantos, M. 2013b.** Growth and photosynthetic responses to copper in wild grapevine. *Chemosphere* 93, 294-301.

**Cambrolle, J., García JL., Figueroa ME., Cantos, M. 2015.** Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. *Chemosphere*. 120 :171-178.

**Cambrollé, J., Mancilla-Leytón JM, Muñoz-Vallés S, Figueroa-Luque E, Luque T, Figueroa ME .2013a.** Effects of copper sulfate on growth and physiological responses of *Limoniastrum monopetalum*. *Environ Sci Pollut Res Int*. 20:8839–8847.

**Cao, Y., Ma C., Chen H., Chen G., Jason C., White ., Xing, B. 2020.** Copper stress in flooded soil: Impact on enzyme activities, microbial community composition and diversity in the

rhizosphere of *Salix integra*. *Science of The Total Environment*.704:135350. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135350>.

**Carlu J, 1952.** Fèves et féveroles. Larousse agricole. 204 p.

**Cazzato, E., Tufarelli V., Ceci E., Stellacci AM., Laudadio, V. 2012.** Quality, yield and nitrogen fixation of faba bean seeds as affected by sulphur fertilization. *Acta Agric. Scand. Sect. B: Soil Plant Sci.* 62, 732 Chaignon –738. doi: 10.1080/09064710. 2012.698642.

**Cetois, A., Quesnoit M., Hinsinger, P. 2003.** Soil copper mobility and availability. A

**Chai, M., Shi F., Li R., Qiu G., Liu F. 2014.** Growth and physiological responses to copper stress in a halophyte *Spartina alterniflora* (Poaceae). *Acta Physiol Plant.* 36:745–754. DOI 10.1007/s11738-013-1452-1.

**Chaieb, N., Bouslama M., Mars, M. 2011.** Growth and yield parameters variability among faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. *J. Nat. Prod. Plant Resour.* 1 (2) : 81-90.

**Chaignon, V. 2001.** Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées. Cas de sols viticoles contaminés par des fongicides. Thèse: Ecole Doctorale, Sciences de l'Environnement: Système Terre, Université d'Aix-Marseille.

**Chandrasekhar, C., Ray, JG .2017.** Copper accumulation, localization and antioxidant response in *Eclipta alba* L. in relation to quantitative variation of the metal in soil. *Acta Physiol Plant.* 39:205.

**Chaux, C., Foury, C. 1994.** Production légumière : légumineuses potagères, légumes fruits, Lavoisier, Paris. pp. 4-8.

**Chen, J., Peng D., Shafi M., Li S., Wu J., Ye Z., Yan W., Lu K., Liu D. 2014.** Effect of copper toxicity on root morphology, ultrastructure, and copper accumulation in Moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*). *Z Naturforsch C J Biosci.* (9-10):399-406. doi: 10.5560/znc.2014-0022. PMID: 25711041.

**Chen, J., Shafi M., Li S., Wang Y., Wu J., Ye Z., Peng D., Yan W., Liu, D. 2015.** Copper induced oxidative stresses, antioxidant responses and phytoremediation potential of Moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*). *Sci Rep* 5:13554.

**Cheng, J., Song J., Ding C., Li X., Wang, X. 2014.** Eco-toxicity of benzo [a] pyrene assessed by soil microbial indicators. *Environ Toxicol Chem.* 33:1930–1936.

**Chinmayee, MD., Mahesh B., Pradesh S., Mini I., Swapna, TS. 2012.** The assessment of phytoremediation potential of invasive weed *Amaranthus spinosus* L. *Appl Biochem Biotech.* 167:1550–1559.

**Clemens, S. 2006.** Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie.* 88:1707–1719.

**Cobbett, C., Goldsbrough, P .2002.** Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu Rev Plant Biol.* 53: 159-182.

**Collins, JF., Copper. In: Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL, Ziegler TR. 2014** eds. *Modern Nutrition in Health and Disease.* 11th ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins:206-16.

- Conde-Cid, M., Santás-Miguel V., Campillo-Cora C., Pérez-Novo C., Fernández-Calviño, D. 2019.** Retention of propiconazole and terbutryn on acid sandy-loam soils with different organic matter and Cu concentrations. *J. Environ. Manage.* 248, 109346.
- Contreras, RA., Pizarro M., Köhler, H. 2018.** Copper stress induces antioxidant responses and accumulation of sugars and phytochelatins in Antarctic *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. *Biol Res.* 51, 48. <https://doi.org/10.1186/s40659-018-0197-0>
- Cuba-Díaz, M., Marín C., Castel K., Machuca Á., Rifo, S. 2017.** Effect of copper (II) ions on morpho-physiological and biochemical variables in *Colobanthus quitensis*. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 17:2. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162017005000031>.
- Cuypers, A., Plusquin M., Remans T., Jozefczak, M. 2010.** Cadmium stress : an oxidative challenge. *Biometals.* 23, 927–940. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9329-x>
- Dar, AS., Rather BA., Wani AR., Ganie, MA. 2017.** Resistance against Insect pests by plant phenolics and their derivative compounds. *Chemical Science Review and Letters.*6:1073-1081.
- de Freitas, TA., França MGC., de Almeida, AAF. 2015.** Morphology, ultrastructure and mineral uptake is affected by copper toxicity in young plants of *Inga subnuda* subs. *luschnathiana* (Benth.) T.D. Penn. *Environ Sci Pollut Res.* 22, 15479–15494 (). <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4610-8>.
- Degournay, A. 2018.** Compréhension du métabolisme central et lipidique chez les plantes et les levures oléagineuses : approche fluxomique. Thèse de doctorat, Biotechnologies. Université de Technologie de Compiègne. p 6-9.
- Degryse, F., Verma V K., Smolders, E. 2008.** Mobilization of Cu and Zn by root exudates of dicotyledonous plants in resin-buffered solutions and in soil. *Plant and Soil*, 306(1–2), 69–84.
- Del Pozo, T., Cambiazo V., González, M. 2010.** Gene expression profiling analysis of copper homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 393, 248-252.
- Demidchik, V., Sokolik A., Yurin, V. 2001.** Characteristics of non-specific permeability and H<sup>+</sup>-ATPase inhibition induced in the plasma membrane of *Nitella flexilis* by excessive Cu<sup>2+</sup>. *Planta.* 212, 583–590.
- Deng, F., Yamaji N., Xia J., Ma, JF. 2013.** A member of the heavy metal P-type ATPase OsHMA5 is involved in xylem loading of copper in rice. *Plant Physiol.* 163 (3), 1353-1362.
- Deng, H., Ye Z H., Wong, M H. 2004.** Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environ. Pollut.*, 132, 29-40.
- Desai, V., Kaler, SG. 2008.** Role of copper in human neurological disorders. *Am. J. Clin. Nutr.* 88(3), 855S-858S
- Díaz, J., Bernal A., Pomar F., Merino, F. 2001.** Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. *Plant Science.* 161, 179-188. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00410-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00410-1).

**Donga, D., Oersa LV., Tukker A., Voet, EVD. 2020.** Assessing the future environmental impacts of copper production in China: Implications of the energy transition. *Journal of Cleaner Production*. 274, 122825.

**Draszawka-Bolzan, B. 2017.** Effect of pH and soil environment. *World News of Natural Sciences*. 8, 50-60.

**Duc, G. 1997.** Faba bean (*Vicia faba* L.). *Field Crops Research*. 53: 99-109.

**Duc, G., Aleksic JM., Marget P., Miki c A., Paul J., Redden, RJ. 2015.** Faba Bean. In: De Ron A. (eds) *Grain Legumes. Handbook of Plant Breeding*, vol 10. Springer, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2797-5\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2797-5_5)

**Duraipandian, M., Sevugaperumal R., Ramasubramanian V., Ganesh, D .2016.** Alleviation of the Effects of Copper Chloride on *Vigna unguiculata* (L) using *Ulva lactuca*. *Biochem Physiol* 5:213. doi:10.4172/2168-9652.1000213.

**Elisa, B., Marsano F., Cavaletto M., Berta, G. 2007.** Copper stress in *Cannabis sativa* roots: morphological and proteomic analysis. *Caryologia* 60:96–101.

**Elleuch, A., CHaâbene Z., Douglas CG., Drira N., Mejdoub H., Khemakhem, B. 2013.** Morphological and biochemical behavior of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) under copper stress. *Ecotox Environ Safe*. 98:46–53.

**Emsley, J. 2003.** *Nature's building blocks*, Oxford University Press Inc. , New York.

Ende, W., Valluru, R .2009. Sucrose, sucrosyl oligosaccharides, and oxidative stress: scavenging and salvaging? *Journal of Experimental Botany*. 60: 9– 18.

**EPA, 2021.** National Primary Drinking Water Regulations: Lead and Copper Rule Revisions. Environmental Protection Agency (EPA). USA. Federal Register, 86: 4198-4312. <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2021-01-15/pdf/2020-28691.pdf>

**Epstein, E., Bloom, JA. 2005.** *Mineral nutrition of plants: principles and perspective*, 2nd edn. Sinauer, Sunderland.

**Epstein, L., Bassein, S. 2001.** Pesticide applications of copper on perennial crops in California, 1993 to 1998. *Journal of Environmental Quality*. 30(5), 1844–1847.

**FAO (Food and Agriculture Organization). 2020.** Crop Production and Trade Data. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>

**FAO .2017.** FAOSTAT Database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at: [www.fao.org/faostat/](http://www.fao.org/faostat/) [accessed June 11, 2017].

**FAOSTAT .2021.** Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available online at: <http://faostat.fao.org> (accessed on June 7, 2021).

**Feigl, G., Kumar D., Lehotai N., Kolbert, Z .2013.** Physiological and morphological responses of the root system of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.) and rapeseed (*Brassica napus* L.) to copper stress. *Ecotoxicol Environ Saf*. 94:179–189.

- Fernández-Calviño, D., Rodríguez-Suárez J.A., López-Periago, E., Arias-Estévez M., Simal-Gándara, J. 2008.** Copper content of soils and river sediments in a winegrowing area, and its distribution among soil or sediment components. *Geoderma*. 145, 91-97.
- Ferrante, M., Conti OG., Rasic-Milutinovic Z., Jovanovic, D. 2013.** Health effects of metals and related substances in drinking water. IWA Publishing (éds). Alliance House, London, UK, pp. 50–52.
- Festa, RA., Thiele, DJ .2011.** Copper: an essential metal in biology. *Curr Biol* 21:R877–R883. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.09.040>
- Fidalgo, F., Azenha M., Silva A F., de Sousa A., Santiago A., Ferraz P., Teixeira, J. 2013.** Copper-induced stress in *Solanum nigrum* L. and antioxidant defense system responses. *Food and energy security*.2: 70-80. <https://doi.org/10.1002/fes3.20>.
- Fleming, M., Tai Y., Zhuang P., McBride, MB. (2013).** Extractability and bioavailability of Pb and As in historically contaminated orchard soil: effects of compost amendments. *Environ. Pollut.* 17, 90–97.
- Foltete, AS. 2010.** Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués. Thèse de doctorat, Université Paul Verlaine - Metz, p245.
- Foltete, AS., Masfarau J.F., Bigorgne E., Nahmani J., Chaurand P., Botta C., Labille J., 2011.** Environmental impact of sunscreen nanomaterials: ecotoxicity and genotoxicity of altered TiO<sub>2</sub> nanocomposites on *Vicia faba*. *Environ. Pollut.* 159, 2515–2522.
- Frery, A., Göl D., Keleş D., Ökmen B., Pınar H., Şığva HÖ., Yemenicioğlu A., Doğanlar S. 2010.** Salt tolerance in *Solanum pennellii*: antioxidant response and related QTL. *BMC Plant Biol.* 10:01–16.
- Fukuoka, M., Tokuda E., Nakagome K., Wu Z., Nagano I., Furukawa, Y. 2017.** An essential role of N-terminal domain of copper chaperone in the enzymatic activation of Cu/Zn-superoxide dismutase. *J. Inorg. Biochem.* 175, 208-216.
- Gad El-Hak, HN., Mobarak YM. 2019.** The neurotoxic impact of subchronic exposure of male rats to copper oxychloride. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 52, 186-191.
- Gall, JE., Boyd RS., Rajakaruna, N. 2015.** Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. *Environ Monit Assess* 187, 201.
- Gallego, SM., Pena LB., Barcia RA., Azpilicueta CE., Iannone MF., Rosales EP., Benavides, MP. 2012.** Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environ Exp Bot.* 83:33–46.
- Georgopoulos, PG., A.Roy MJ., Yonone-Lioy RE., Opiekun PJ., Lioy, P. 2001.** Environmental copper: its dynamics and human exposure issues. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Reviews.* 4(4), 341-394.
- Gharbi, F., Rejeb S., Ghorbal MH., Morel, JL .2005.** Plant response to copper toxicity as affected by plant species and soil type. *Journal of Plant Nutrition.* 28:379–392.

- Ghazaryan, K., Movsesyan H., Ghazaryan N., Watts BA. 2019.** Copper phytoremediation potential of wild plant species growing in the mine polluted areas of Armenia. *Environmental Pollution*. 249, 491-501.
- Gherbi, M. 2012.** Problematic of Environment Protection in Algerian Cities. *Energy Procedia* 18:265–275. doi:10.1016/j.egypro.2012.05.038.
- Gomes, M., Smedbol É., Chalifour A., Hénault-Ethier L., Labrecque M., Lepage L., Lucotte M., Juneau, P. 2014.** Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: An overview. *Journal of experimental botany*. 65: 4691–4703
- Gómez-Arroyo, S., Armienta MA., Cortás-Eslava J., Villalobos-Pietrini R. 1997.** Sister chromatid exchanges in *Vicia faba* induced by arsenic-contaminated drinking water from Zimapan, Hidalgo, Mexico. *Mutat. Res-Genet. Toxicol. Environ. Mutagen*. 394, 1–7.
- Gong, Q., Wang L., Dai T., Zhou J., Kang Q., Chen H., Li K., Li Z. 2019.** Effects of copper on the growth, antioxidant enzymes and photosynthesis of spinach seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 171, 771-780.
- Gonzalez-Mendoza, D., Escoboza-Garcia F., Santamaria J M., ZapataPerez, O. 2013.** Copper stress on photosynthesis of black mangle (*Avicennia germinans*). *An. Acad. Bras. Ciênc.* 85, 665–670. doi: 10.1590/S0001- 37652013000200013.
- Grønberg, C., Sitsel O., Lindahl E., Gourdon P., Andersson, M. 2016.** Membrane Anchoring and Ion-Entry Dynamics in P-type ATPase Copper Transport. *Biophysical Journal* 111, 2417-2429.
- Guo, R., Lim WA, Ki JS. 2016.** Genome-wide analysis of transcription and photosynthesis inhibition in the harmful dinoflagellate *Prorocentrum minimum* in response to the biocide copper sulfate. *Harmful Algae*. 57: 27-38
- Gustavino, B., Ceretti E., Zani C., Zerbini I., Rizzoni M., Monarca S., Feretti, D. 2012.** Influence of temperature on mutagenicity in plants exposed to surface disinfected drinking water. *J. Water Resour. Prot.* 4, 638–647.
- Hall, JL. 2002.** Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J. Exp. Bot.* 53, 1–11.
- Hänsch, R., Mendel, RR. 2009.** Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Curr Opin Plant Biol.* 12:259-66. doi: 10.1016/j.pbi.2009.05.006. Epub 2009 Jun 11. PMID: 19524482.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M., Parvin, K., Bhuiyan, T F., Anee, T I., Nahar, K., Hossen, M S., Zulfiqar, F., Alam, M M., Fujita, M. 2020.** Regulation of ROS Metabolism in Plants under Environmental Stress: A Review of Recent Experimental Evidence. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8695. <https://doi.org/10.3390/ijms21228695>.
- Hayat, S., Hayat Q., Alyemeni M N., Wani A S., Pichtel J., Ahmad, A. 2012.** Role of proline under changing environments, *Plant Signaling & Behavior*, 7:11, 1456-1466, DOI: 10.4161/psb.21949.

**Henckens, M.L.C.M., Worrell, E. 2020.** Reviewing the availability of copper and nickel for future generations. The balance between production growth, sustainability and recycling rates. *Journal of Cleaner Production*. 264: 121460. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121460>.

**Herzog, H. 1984.** Relation of source and sink during grain filling period in wheat and some aspects of its regulation. *Physiol. Plant.* 56: 155-160.

**Heuzé, V., Tran G., Delagarde R., Lessire M., Lebas, F. 2016.** Faba bean (*Vicia faba*). Feedipedia, a Programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. Available at: <http://www.feedipedia.org/node/620>.

**Hichem, A., Djamel, B. 2020.** Physico-chemical characterizations and impact of organic matter on the dynamics of heavy metals (Cu, and Zn) in some soils of Biskra (Algeria). *Journal of King Saud University – Science*. 32:307-311. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.05.016>.

**Hinsinger, P., Courchesne, F. 2008.** Biogeochemistry of metals and metalloids at the soil–root interface. Wiley, Hoboken, USA, pp. 267–311. <https://doi.org/10.1002/9780470175484.ch7>.

**Hinsinger, P., Plassard C., Tang, C. 2003.** Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. *Plant and Soil*. 248, 43–59. <https://doi.org/10.1023/A:1022371130939>.

**Hofmann, NR. 2012.** Nicotianamine in zinc and iron homeostasis. *Plant Cell*. 24, 373. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.240212>.

**Hossain, MS., Abdelrahman M., Tran CD., Nguyen KH., Chu HD., Watanabe Y., Tran L.S.P. 2020.** Insights into acetate-mediated copper homeostasis and antioxidant defense in lentil under excessive copper stress. *Environ. Pollut.* 258,113544.

**Hu, C., Liu L., Li X., Xu Y., Ge Z., Zhao, Y. 2018.** Effect of graphene oxide on copper stress in *Lemna minor* L.: evaluating growth, biochemical responses, and nutrient uptake. *J Hazard Mater.* 341:168–176.

**Huang, WL., Wu FL., Huang HY., Huang WT., Deng CL., Yang LT., Chen, LS. 2020.** Excess copper-induced alterations of protein profiles and related physiological parameters in citrus leaves. *Plants*. 9, 291. <https://doi.org/10.3390/plants9030291>

**Husak, V. 2015.** Copper and copper-containing pesticides: metabolism, toxicity and oxidative stress. *Journal of Vasyľ Stefanyk Precarpathian National University*. 2:38-50.

**Iqbal, M. 2016.** *Vicia faba* bioassay for environmental toxicity monitoring: A review. *Chemosphere*. 144, 785–802. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.09.048.

**Işeri, OD., Korpe DA., Yurtcu E., Sahin FI., Haberal, M. 2011.** Copperinduced oxidative damage, antioxidant response and genotoxicity in *Lycopersicon esculentum* Mill. and *Cucumis sativus* L. *Plant Cell Rep.* 30:1713–1721.

**Islek, C., Unal, BT. 2015.** Copper Toxicity in *Capsicum annuum*: Superoxide Dismutase and Catalase Activities, Phenolic and Protein Amounts of in-vitro-Grown Plants Cemil. *Pol. J. Environ. Stud.* Vol. 24: 2441-2445. DOI: <https://doi.org/10.15244/pjoes/59035>.

- Jaime-Pérez, N., Kaftan D., Bina D., Bokhari S.N.H., Shreedhar S., Küpper H., 2019.** Mechanisms of sublethal copper toxicity damage to the photosynthetic apparatus of *Rhodospirillum rubrum*. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 1860, 640-650.
- Jensen, E., Peoples MB., Boddey RM., Gressho PM., Hauggaard-Nielsen H., Alves B.J. R. 2012.** Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and bioreneries. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 329–364. doi: 10.1007/s13593-011-0056-7
- Jia, D., Yang JL., Li, CH. 2012.** Advances in metallotionein studies in forest trees. *Plant Omics*. 5:46-51.
- Jones, DL., Nguyen C., Finlay RD. 2009.** Carbon flow in the rhizosphere: Carbon trading at the soil root interface. *Plant Soil*. 321, 5–33. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9925-0>.
- Jouili, H., El Ferjani, E. 2003.** Changes in antioxidant and lignifying enzyme activities in sunflower roots (*Helianthus annuus* L.) stressed with copper excess. *C. R. Biol.* 326(7):639-644.
- Jung, CH., Maeder V., Funk F., Frey B., Sticher H., Frosserd, E. 2003.** Release of phenols from *Lupinus albus* l. roots exposed to Cu and their possible role in Cu detoxification. *plant and soil*. 252, 301-312.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H. 2011.** Trace Elements in Soils and Plants. 4th Edition, CRC Press, Boca Raton. USA.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, K. 2001.** Trace elements in soils and plants. Third Edition. CRC Press. Boca Raton, USA.
- Kalaikandhan, LR., Vijayarengan P., Sivasankar R., Mathivanan, S. 2014.** The effect of copper and zinc on the morphological parameters of *Sesuvium portulacastrum*. *Int.J. Curr. Res. Aca. Rev.* 2:105-120.
- Kapoor, D., Singh S., Kumar V., Romero R., Prasad R., Singh J. 2019.** Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). *Plant Gene*. 19, 100182.
- Karkanis, A., Ntatsi G., Lapse L., Fernández JA., Vågen IM., Rewald B., Alsin aI., Savvas, D. 2018.** Faba Bean Cultivation – Revealing Novel Managing Practices for More Sustainable and Competitive European Cropping Systems. *Front. Plant Sci.* 9:1115. doi: 10.3389/fpls.2018.01115.
- Karlsson, T., Persson P., Skyllberg, U. 2006.** Complexation of copper (II) in organic soils and in dissolved organic matter- EXAFS evidence for chelate ring structures. *Environmental science & technology*. 40: 2623-2628.
- Kastori, R., Petrovic M., Petrovic, N. 2008.** Effect of excess lead, cadmium, copper, and zinc on water relations in sunflower. *J. Plant Nutr.* 15: 2427-2439.
- Keunen, E., Peshev D., Vangronsveld J., Den Ende W V., Cuypers, A. 2013.** Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Journal Plant, Cell and environment*. 36:1242-1255. <https://doi.org/10.1111/pce.12061>

- Khan, MAR., Bolan NS., Mackay, AD. 2005.** Soil test to predict the copper availability in pasture soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 36 : 2601-2624.
- Khateeb, W., Al-Qwasemeh, H. 2014.** Cadmium, copper and zinc toxicity effects on growth, proline content and genetic stability of *Solanum nigrum* L., a crop wild relative for tomato; comparative study. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 20 : 31-9.
- kheloul Lynda. 2014.** contribution à l'étude d'inventaire qualitatif et quantitatif des pucerons inféodés à la culture de la fève. Disponible au:([www.ummo.dz/IMG/pdf/Kheloul\\_Lynda.](http://www.ummo.dz/IMG/pdf/Kheloul_Lynda.pdf))
- Kihlman, B. 1975.** Root tips of *Vicia faba* for the study of the induction of chromosomal aberrations. *Mutat. Res-Environ. Mutagen. Relat. Subj.* 31 : 401– 412.
- King, D., Citeau L., Bispo A., Bardy, M. 2008.** Gestion durable des sols. Editions Quae.
- Kisa, D., Elmastas M., Ozturk L., Kayır, O. 2016.** Responses of the phenolic compounds of *Zea mays* under heavy metal stress. *Appl Biol Chem*. 59:813–820. DOI 10.1007/s13765-016-02299.
- Kopittke, P., Pax C., Blamey F., A McKenna B., Wang, P. Menzies, N. 2011.** Toxicity of metals to roots of cowpea in relation to their binding strength. *Environ. Toxicol. Chem* 30:1827-1833.
- Kulhari, A., Sheorayan A., Bajar S., Sarkar S., Chaudhury A., Kalia, RK. 2013.** Investigation of heavy metals in frequently utilized medicinal plants collected from environmentally diverse locations of north western India. *Springer plus*. 2:676.
- Kumar, S., Kumar S., Prakash P., Singh, M.2014.** Antioxidant defense mechanisms in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under copper and arsenic toxicity. *Int J Plant Physiol Biochem* 6:40–43.
- Kumar, V., Awasthi G., Chauhan, PK. 2012.** Cu and Zn tolerance and responses of the Biochemical and Physicochemical system of Wheat. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 8: 203-213.
- Kumar, V., Pandita S., Preet G., Sidhu S., Sharma A., Khanna K., Kaur P., Bali AS., Setia, R. 2021.** Copper bioavailability, uptake, toxicity and tolerance in plants: A comprehensive review. *Chemosphere* 262,127810. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127810>.
- Kuziemska, B., Wysokiński A., Trębicka, J. 2020.** The effect of different copper doses and organic fertilisation on soil's enzymatic activity. *Plant Soil Environ*. 66: 93-98. <https://doi.org/10.17221/671/2019-PSE>
- Lai, J.I., Luo., Xg. 2019.** High-efficiency antioxidant system, chelating system and stress responsive genes enhance tolerance to cesium ionotoxicity in Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 181: 491-498.
- Landry, EJ., Fuchs SJ., Hu, J. 2016.** Carbohydrate composition of mature and immature faba bean seeds. *J. Food Compos. Anal.* 50 : 55–60. doi: 10.1016/j.jfca.2016.05.010
- Lange, B., van der Ent A., Baker AJM., Echevarria G., Mahy G., Malaisse F., Faucon, MP. 2017.** Copper and cobalt accumulation in plants: a critical assessment of the current state of knowledge. *New Phytol*. 213 : 537-551.

**Laribi, A., Shand C., Wendler R., Mouhouche B., Colinet, G. 2019.** Concentrations and sources of Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb and Zn in soil of the Mitidja plain, Algeria, *Toxicological & Environmental Chemistry*. 101:(1-2), 59-74. DOI: 10.1080/02772248.2019.1619744.

**Laurent, C., Bravin MN., Crouzet O., Pelosi C., Tillard E., Lecomte P., Lamy, I. 2020.** Increased soil pH and dissolved organic matter after a decade of organic fertilizer application mitigates copper and zinc availability despite contamination. *Science of the Total Environment* 709, 135927.

**Lee, RC., Farfan-Caceres LM., Debler JW., Syme, RA. 2020.** Characterization of Growth Morphology and Pathology, and Draft Genome Sequencing of *Botrytis fabae*, the Causal Organism of Chocolate Spot of Faba Bean (*Vicia faba* L.). *Front. Microbiol.* 11:217. doi: 10.3389/fmicb.2020.00217.

**Leme, DM., Marin-Morales MA. 2009.** *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutat. Res-Rev. Mutat. Res.* 682: 71–81.

**Lenoir, T. 2011.** Mécanismes de rétention du cuivre dans les sols : évaluation statistique des approches macroscopiques et spectroscopiques. *Sciences de la Terre*. Université de Grenoble, Français.

**Leygraf, C., Chang T., Herting G., Odnevall Wallinder, I. 2019.** The origin and evolution of copper patina colour. *Corrosion Science* 157: 337-346.

**Li, L., Yang T., Liu R., Redden B., Maalouf F., Zong, X. 2017.** Food legume production in China. *Crop J.* 5: 115–126. doi: 10.1016/j.cj.2016.06.001

**Li, P., Lin C., Cheng H., Duan X., Lei, K. 2015.** Contamination and health risks of soil heavy metals around a lead/zinc smelter in southwestern China. *Ecotoxicol Environ Saf.* **113**, 391–399.

**Li, T., Tao Q., Liang C., Shohag M., Yang X., Sparks, DL. 2013.** Complexation with dissolved organic matter and mobility control of heavy metals in the rhizosphere of hyperaccumulator *Sedum alfredii*. *Environmental Pollution* 182: 248-255.

**Lichtenthaler, HK.1987.** Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. *Methods Enzymology*. 148: 350-381.

**Lide, DR. (Ed.). 2009.** CRC handbook of chemistry and physics. 89th Edition (CD-ROM version). Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor and Francis.

**Lin, CY., Trinh NN., Fu SF., Hsiung YC., Chia LC., Lin CW., Huang, HJ. 2013.** Comparison of early transcriptome responses to copper and cadmium in rice roots. *Plant Mol Biol* 81:507–522.

**Link, W., Balko C., Stoddard, FL. 2010.** Winter hardiness in faba bean: physiology and breeding. *Field Crops Res.* 115: 287–296. doi: 10.1016/j.fcr.2008. 08.004.

**Liu, D. Kottke, I. 2004.** Subcellular localization of copper in the root cells of *Allium sativum* by electron energy loss spectroscopy (EELS). *Bioresour. Technol*, 94, 153–158.

**Liu, J., Wang J., Lee S., Wen, R. 2018a.** Copper-caused oxidative stress triggers the activation of antioxidant enzymes via ZmMPK3 in maize leaves. PLoS One 13 (9):e0203612. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203612>.

**Liu, JJ., Wei Z., Li, JH. 2014.** Effects of copper on leaf membrane structure and root activity of maize seedling. Bot Stud 55:1–6.

**Liu, N., Zhong G., Zhou J., Yilin L., Pang Y., Cai H., Wu, Z. 2018b.** Separate and combined effects of glyphosate and copper on growth and antioxidative enzymes in *Salvinia natans* (L.) All. Science of the Total Environment 655:1448-1456.

**Liu, S., Yang R., Pan Y., Ren B., Chen Q., Li X., Xiong X., Tao J., Cheng Q., Ma, M., 2016.** Beneficial behavior of nitric oxide in copper-treated medicinal plants. Journal of Hazardous Materials. 314: 140-154.

**Lombardi, L., Sebastiani, L. 2005.** Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. Plant Sci., 168, 797–802.

**Longobardi, F., Sacco D., Casiello G., Ventrella A., Sacco, A. 2015.** Chemical profile of the carpino broad bean by conventional and innovative physicochemical analyses. J. Food Qual. 38:273–284. doi: 10.1111/jfq.12143.

**Luo, L., Ma Y., Zhang S., Wei D., Zhu, YG .2009.** Inventory of trace element inputs to agricultural soils in China. J Environ Manag. 90:2524–2530

**Lwalaba, JLW., Louis LT., Zvobgo G., Fu, L., Mwamba TM., Mukobo Mundende RP., Zhang, G. 2019.** Copper alleviates cobalt toxicity in barley by antagonistic interaction of the two metals. Ecotoxicology and Environmental Safety. 180 : 234-241.

**Ma, Y B., Lombi E., Oliver I W., Nolan, A L., McLaughlin, M J. 2006.** Long-term aging of copper added to soils. Environmental Science & Technology, 40, 6310-6317.

**Maatougui, MEH ., Nasr N., Baccouri, S. 2017.** Rapport de l’Atelier FAO-Maghreb-ICARDA: Contribution à la consolidation de la relance des légumineuses alimentaires dans les systèmes agraires du Maghreb, Tunis 1 et 2 Novembre 2017.

**Maatougui, MEH. 2007.** Manuel de formation : Les maladies, les adventices et les ravageurs des fèves en Algérie. Réseau maghrébin de recherche sur fèves (Rémafève). Algérie. 4 p.

**Maatougui, MEH., 1996.** Situation de la culture des fèves en Algérie et perspectives de relance. Céréaliculture, numéro spéciale Fève : 17-30.

**Mahmud, S., Hassan MM., Moniruzzaman M., Biswas N., Rahman MM., Haque ME. 2013.** Study on the accumulation of copper from soil by shoots and roots of some selective plant species. International Journal of Biosciences. 3:68–75.

**Mahurpawar, M. 2015.** Effects of heavy metals on human health. International Journal of Research -GRANTHAALAYAH, 3(9SE), 1–7. <https://doi.org/10.29121/granthaalayah.v3.i9SE.2015.3282>

**Maksymiec, W. 1998.** Effect of copper on cellular processes in higher plants. Photosynthetica 34, 321–342. <https://doi.org/10.1023/A:1006818815528>.

**Malinowska, K ., Malinowski R., Studziński, M. 2018.** Physiological reaction of basket willow (*Salix viminalis* L.) to copper excess in hydroponic medium. *Forestry*.60: 214–220. Doi: 10.2478/ffp-2018-0022.

Manan, FA., Chia WH., Ali Othman NF., Mamat DD., Chong CS., Abd Samad A., Chai, TT. **2015.** Physical and antioxidative responses of *Orthosiphon stamineus* towards various copper and lead concentrations, *Chemical Speciation & Bioavailability*, 27: 106-111, DOI: [10.1080/09542299.2015.1095656](https://doi.org/10.1080/09542299.2015.1095656).

**Manceau, A., Marcus, M. A., et Tamura, N. (2002).** Quantitative speciation of heavy metals in soils and sediments by synchrotron X-ray techniques. *Applications of Synchrotron Radiation in Low-Temperature Geochemistry and Environmental Sciences*, 49: 341-428.

**Manzl, C., Enrich J., Ebner H., Dallinger R., Krumschnabel, G. 2004.** Copper-induced formation of reactive oxygen species causes cell death and disruption of calcium homeostasis in trout hepatocytes. *Toxicology*. 196, 57-64.

**Marastoni, L., Sandri M., Pii Y., Valentinuzzi F., Cesco S., Mimmo, T. 2019.** Morphological Root Responses and Molecular Regulation of Cation Transporters Are Differently Affected by Copper Toxicity and Cropping System Depending on the Grapevine Rootstock Genotype. *Front. Plant Sci.* 10:946. doi: 10.3389/fpls.2019.00946.

**Marcec, MJ., Gilroy S., Poovaiah BW., Tanaka, K. 2019.** Mutual interplay of Ca<sup>2+</sup> and ROS signaling in plant immune response. *Plant Science*. 283: 343-354.

**Marco, R., Silva R F., Andrezza R., Ros CO., Scheid D L., Bertollo, G M. 2016.** Copper phytoaccumulation and tolerance by seedlings of native Brazilian trees. *Environmental Engineering Science*. 33: 176–184.

**Marques, DM., da Silva AB., Mantovani JR., Magalhães PC., de Souza, TC. 2019.** Root morphology and leaf gas exchange in *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (Caesalpinioideae) exposed to copper-induced toxicity. *South African Journal of Botany*. 121: 186-192.

**Marques, DM., Júnior VV., da Silva AB., Mantovani JR., Magalhães PC., de Souza, TC. 2018.** Copper Toxicity on Photosynthetic Responses and Root Morphology of *Hymenaea courbaril* L. (Caesalpinioideae). *Water Air Soil Pollut.* 229: 138

**Marschner, H., 2011.** Marschner's mineral nutrition of higher plants. London. Academic press.

**Martínez-Fernández, D., Walker DJ., Romero-Espinar P., Flores P., del Río, JA. 2011.** Physiological responses of *Bituminaria bituminosa* to heavy metals. *Journal of Plant Physiology*. 168(18): 2206–2211. doi:10.1016/j.jplph.2011.08.008.

**Matson Dzebo, M., Blockhuys S., Valenzuela S., Celauro E., Esbjörner EK., Wittung-Stafshede, P. 2018.** Copper Chaperone Atox1 Interacts with Cell Cycle Proteins. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 16: 443-449.

**McBride, MB. 1981.** Forms and distribution of copper in solid and solution phases of soil. In: *Copper in soils and plants*. Eds Loneragan JF, Robson AD and Graham RD, Academic Press, pp. 25–45.

**McKenzie, R M. 1980.** The adsorption of lead and other heavy metals on oxides of manganese and iron. *Australian Journal of Soil Research*. 18: 61-73.

- Mei, L., Daud, MK., Ullah N., Ali S., Khan M., Malik Z., Zhu, SJ. 2015.** Pretreatment with salicylic acid and ascorbic acid significantly mitigate oxidative stress induced by copper in cotton genotypes. *Environ Sci Pollut Res.* 22:9922-3. doi:10.1007/s11356-015-4075-9
- Meng, QM., Zou J., Zou JH., Jiang WS., Liu, DH. 2007.** Effect of Cu<sup>2+</sup> concentration on growth, antioxidant enzyme activity and malondialdehyde content in Garlic (*Allium sativum* L.). *Acta Biol Cracov. Bot* 49:95–101.
- Meyssonier, A. 2016.** *Développement d'un indicateur d'effet écotoxicologique terrestre pour le cuivre basé sur l'activité enzymatique.* Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal, pp 16.
- Michalak, A. 2006.** Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Pol J Environ Stud.* 15(4): 523-530.
- Migeon, A., Blaudez D., Wilkins O., Montanini B., Campbell M.M., Richaud P., Thomine S., Chalot, M. 2010.** Genome-wide analysis of plant metal transporters, with an emphasis on poplar. *Cell Mol Life Sci.* 67(22): 3763-3784.
- Mihaljevič, M., Baieta R., Ettler V., Vaněk A., Kříbek B., Penížek V., Drahota P., Trubač J., Sracek O., Chrastný V., Mapani BS. 2019.** Tracing the metal dynamics in semi-arid soils nearmine tailings using stable Cu and Pb isotopes. *Chemical Geology.* 515: 61-76.
- Mir, AR., Pichtel J., Hayat, S. 2021.** Copper: uptake, toxicity and tolerance in plants and management of Cu-contaminated soil. *Biometals.* 34(4):737-759. doi: 10.1007/s10534-021-00306-z.
- Monarca, S., Feretti D., Zani C., Rizzoni M., Casarella S., Gustavino B., 2005.** Genotoxicity of drinking water disinfectants in plant bioassays. *Environ. Mol. Mutagen.* 46: 96–103.
- Morel, MC., Spadini L., Brimo K., Martins JMF., 2014.** Speciation study in the sulfamethoxazole–copper–pH–soil system: Implications for retention prediction. *Science of the Total Environment.* 481: 266-273.
- Mostofa MG., Hossain MA., Fujita, M. 2014.** Trehalose pretreatment induces salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings: oxidative damage and co-induction of antioxidant defense and glyoxalase systems, *Protoplasma.* 252: 461–475.
- Mostofa, M., Hossain M., Fujita M., Tran, LSP. 2015.** Physiological and biochemical mechanisms associated with trehalose-induced copper-stress tolerance in rice. *Sci Rep.* 5: 11433. <https://doi.org/10.1038/srep11433>.
- Mostofa, MG., Fujita, M. 2013.** Salicylic acid alleviates copper toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings by up-regulating antioxidative and glyoxalase systems. *Ecotoxicology.* 22:959–973.
- Mottaleb, SA., Hassan AZA., El-Bahbohy R., Mahmoud, AWM. 2021.** Are Copper Nanoparticles Toxic to All Plants? A Case Study on Onion (*Allium cepa* L.). *Agronomy.* 11, 1006. <https://doi.org/10.3390/agronomy11051006>.
- Müller, L., Gnoyke S., Popken AM., BöhmV. 2010.** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWTG Food Sciencenand Technology* 43:992-999

- Mulugeta, W., Tesfaye K., Getnet M., Ahmed S., Nebiyu A., Mekuanint, F. 2019.** Quantifying yield potential and yield gaps of *faba bean* in Ethiopia. *Ethiop. J. Agric. Sci.* 29, 105–120.
- Muñoz-Romero, V., López-Bellido L., López-Bellido, R.J. 2011.** Faba bean root growth in a Vertisol: tillage effects. *Field Crops Res.* 120: 338–344. doi: 10.1016/j.fcr.2010.11.008
- Musallam, I.W., Al-Karaki GN., Ereifei KI., Rahman, A. 2004.** Chemical composition, of faba bean genotypes under rainfed and irrigation conditions. *Int J. Agr. Biol.* 6: 359-362
- Muyumba, D K., Pourret O., Liénard A., Faucon M-P., Mahy, G.2018.** Evaluation expérimentale de la phytodisponibilité du cuivre et du cobalt dans les sols des écosystèmes métallifères de l'Arc cuprifère katangais. *Anthropisation des paysages katangais*, Presses Universitaires de Liège, pp.193-213.
- Mwamba, T., Li L., Gill RA., Islam F., Nawaz A., Ali DB., Farooq, MA., Lwalaba J., Zhou, W. 2016.** Differential subcellular distribution and chemical forms of cadmium and copper in *Brassica napus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 134:239-249. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.08.021.
- Nagajyoti, PC., Lee, KD., Sreekanth, TVM. 2010.** Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. *Environmental Chemistry Letters.* 8(3): 199–216.
- Nasim, SA., Dhir, B. 2010.** Heavy metals alter the potency of medicinal plants. *Rev Environ Contam Toxicol.* 203:139–149. doi: 10.1007/978-1-4419-1352-4\_5.
- Natasha, Shahid M., Niazi NK., Khalid S., Murtaza B., Bibi I., Rashid, MI. 2018.** A critical review of selenium biogeochemical behavior in soil-plant system with an inference to human health. *Environmental pollution.* 234 : 915-934.
- Navarrete, A., González A., Gómez M., Contreras RA., Díaz P., Lobos G., Brown, MT., Sáez CA., Moenne, A. 2019.** Copper excess detoxification is mediated by a coordinated and complementary induction of glutathione, phytochelatins and metallothioneins in the green seaweed *Ulva compressa*. *Plant Physiology and Biochemistry.* 135 : 423-431.
- Navel, A. 2012.** Distribution, spéciation impact et transfert du cuivre dans un sol sous vigne : rôle de la structuration spatiale et du statut organique. Thèse de doctorat. Sciences de la Terre. Université Grenoble Alpes. pp 29.
- Nazir, F., Hussain A., Fariduddin, Q. 2019.** Hydrogen peroxide modulate photosynthesis and antioxidant systems in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants under copper stress. *Chemosphere.* 230: 544-558.
- Neme, K., Bultosa G., Bussa, N. 2015.** Nutrient and functional properties of composite flours processed from pregelatinised barley, sprouted faba bean and carrot flours. *Int. J. Food Sci. Technol.* 50: 2375–2382. doi: 10.1111/ijfs. 12903.
- Nielsen, MT., Scott-Fordsmand JJ., Murphy MW., Kristiansen SM. 2015.** Solubility of copper along a soil contamination gradient *J. Soils Sediments.* 15 (7):1558-1570.
- Nieves-Cordones, M., López-Delacalle M., Ródenas R., Martínez V., Rubio F., Rivero, RM. 2019.** Critical responses to nutrient deprivation: A comprehensive review on the role of ROS and RNS. *Environmental and Experimental Botany.* 161: 74-85.

**Nishizawa-Yokoi, A., Yabuta Y., Shigeoka, S. 2008.** The contribution of carbohydrates including raffinose family oligosaccharides and sugar alcohols to protection of plant cells from oxidative damage. *Plant Signal Behav.* 3:1016–8.

**Noreen, S., Salim A M., Yaamin T., Arfan, M. 2018.** The ameliorative effects of exogenously applied proline on physiological and biochemical parameters of wheat (*Triticum aestivum* L.) crop under copper stress condition, *Journal of Plant Interactions.* 13:221-230, DOI: 10.1080/17429145.2018.1437480.

**Nuessly, GS., Hentz MG., Beiriger R., Scully, BT. 2004.** Insects associated with faba bean, *Vicia faba* (Fabales: Fabaceae), in southern Florida. *Florida entomologist.* 87 (2): 204-211p.

**Obrador, A., Gonzalez D., Jose, M. 2013.** Alvarez. Effect of Inorganic and Organic Copper Fertilizers on Copper Nutrition in *Spinacia oleracea* and on Labile Copper in Soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 61 (20): 4692-4701. DOI: 10.1021/jf305473f.

**Ogunkunle, CO., Bornmann B., Wagner R., Fatoba PO., Frahm R., Lützenkirchen-Hecht, D. 2019.** Copper uptake, tissue partitioning and biotransformation evidence by XANES in cowpea (*Vigna unguiculata* L) grown in soil amended with nano-sized copper particles. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management.* 12, 100231.

**Ohsumi, Y., Kitamoto K., Anraku, Y. 1988.** Changes induced in the permeability barrier of the yeast plasma membrane by cupric ion. *J. Bacteriol.* 170: 2676–2682.

**Olawoyin, R., Oyewole SA., Grayson, RL. 2012.** Potential risk effect from elevated levels of soil heavy metals on human health in the Niger delta. *Ecotoxicol Environ Saf.* 85:120–130

**OMS, 2004.** Copper in Drinking-water: Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Geneva, World Health Organization (WHO/SDE/WSH/03.04/88).

**OMS, 2018.** A global overview of national regulations and standards for drinkingwater quality. Geneva: World Health Organization. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

**Oorts, K. 2013.** Copper. In: Alloway B (ed). *Heavy Metals in Soils. Environmental Pollution*, vol 22. Springer, Dordrecht

**Palmer, CM., Guerinot, ML. 2009.** Facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Nat Chem Biol.* 5: 333-340.

**Parveen, A., Saleem MH., Kamran M., Haider MZ., Chen JT., Malik Z., Rana MS., Hassan A., Hur G., Javed, MT. 2020.** Effect of citric acid on growth, ecophysiology, chloroplast ultrastructure, and phytoremediation potential of jute (*Corchorus capsularis* L.) seedlings exposed to copper stress. *Biomolecules.* 10:592. doi: 10.3390/biom10040592.

**Parys, E., Wasilewska W., Siedlecka M., Zienkiewicz M., Drożak A., Romanowska, E. 2014.** Metabolic responses to lead of metallicolous and nonmetallicolous populations of *Armeria maritima*. *Arch Environ Contam Toxicol.* 67:565-577.

**Payne, T E., Brendler V., Ochs M., Baeyens B., Brown P L., Davis, J A., Ekberg C., Kulik D A., Lutzenkirchen J., Missana T., Tachi Y., Loon, L R V., Altmann S. 2013.** Guidelines for thermodynamic sorption modelling in the context of radioactive waste disposal. *Environmental Modeling & Software.* 42, 143-156.

**Pedersen, MB., Kjaer C., Elmegaard, N. 2000.** Toxicity and bioaccumulation of copper to black bindweed (*Fallopia convolvulus*) in relation to bioavailability and the age of soil contamination. *Arch Environ Contam Toxicol.* 39:431–439.

**Peron, JY. 2006.** Références. Production légumière. 2ème Ed. 613 p

**Peshev D., Ende, WV. 2013.** Sugars as Antioxidants in Plants. In: Tuteja N., Gill S. (eds) *Crop Improvement Under Adverse Conditions.* Springer, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4633-0\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4633-0_13)

**Poschenrieder, C., Gunsé B., Barceló, J. 1989.** Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance, and abscisic acid content in expanding bean leaves. *Plant Physiol.* 90: 1365–1371.

**Pourrut, B., Shahid M., Dumat C., Winterton P., Pinelli E. 2011.** Lead Uptake, Toxicity, and Detoxification in Plants. *Rev Environ Contam Toxicol,* pp. 113-136.

**Price, J., Laxmi A., Martin SKS., Jang, JC. 2004.** Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in *Arabidopsis*. *The Plant Cell.* 16: 2128–2150.

**Prohaska, JR. 2012.** Copper. In: Erdman JW, Macdonald IA, Zeisel SH, eds. *Present Knowledge in Nutrition.* 10 th ed. Washington, DC: Wiley-Blackwell;:540-53.

**Puig, S., Penarrubia, L. 2009.** Placing metal micronutrients in context: transport and distribution in plants. *Curr Opin Plant Biol.* 12: 299-306.

**Qu, M., Wang Y., Huang B., Zhao, Y. 2018.** Spatial uncertainty assessment of the environmental risk of soil copper using auxiliary portable X-ray fluorescence spectrometry data and soil pH. *Environmental Pollution.* 240: 184-190.

**Quartacci, MF., Pinzino C., Sgherri CL., Dalla Vecchia F., Navari-Izzo, F. 2000.** Growth in excess copper induces changes in the lipid composition and fluidity of PSII-enriched membranes in wheat. *Physiol. Plant.* 108: 87–93. doi: 10.1034/j.1399-3054.2000.108001087.x

**Raldugina, G., Krasavina M., Fjodorovna Lunkova N., Anatoljevna Burmistrova, N. 2016.** Resistance of Plants to Cu Stress. pp. 69-114.

**Rather, BA., Masood A., Sehar Z., Majid A., Anjum NA., Khan, NA. 2020.** Mechanisms and Role of Nitric Oxide in Phytotoxicity-Mitigation of Copper. *Front. Plant Sci.* 11:675. doi: 10.3389/fpls.2020.00675.

**Rattan, RK., Datta SP., Chhonkar PK., Suribabu K., Singh, AK. 2005.** Longterm impact of irrigation with sewage effluents on heavy metal content in soils, crops and groundwater: a case study. *Agric Ecosyst Environ.* 109:310–322.

**Reckova, S., Tuma, J., Dobrev, P., Vankova, R. 2019.** Influence of copper on hormone content and selected morphological, physiological and biochemical parameters of hydroponically grown *Zea mays* plants. *Plant Growth Regul.* 89: 191-201.

**Reeves, R D., Baker, A J., Jaffré, T., Erskine, P D., Echevarria, G., van der Ent, A. 2018.** Aglobal database for plants that hyperaccumulate metal and metalloid trace elements. *New Phytologist.* 218: 407-411.

**Rehman, M., Liu L., Wang Q., Saleem M H., Bashir S., Ullah S., Peng, D. 2019a.** Copper environmental toxicology, recent advances, and future outlook: a review. *Environmental Science and Pollution Research*.26:18003–18016. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05073-6>.

**Rehman, M., Maqbool Z., Peng D., Lijun, L. 2019b.** Morpho-physiological traits, antioxidant capacity and phytoextraction of copper by ramie (*Boehmeria nivea* L.) grown as fodder in copper-contaminated soil. *Environ Sci Pollut Res*. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-4015-6>

**Reta Sanchez, DG., Santos Serrato Corona J., Viramontes RF., Cueto Wong JA., Padilla SB., César, JS. 2008.** Cultivos alternativos con potencial de uso forrajero en la comarca lagunera, Primera, Mexico, pp. 41.

review, 110p.

**Riedel, GF. 2008.** Copper. Dans : *Encyclopedia of ecology*. volume 1 A-C. Jorgensen, S.E. et Fath, B.D. (éds). pp. 778–783.

**Rinklebe, J., Shaheen, SM. (2014).** Assessing the mobilization of cadmium, lead, and nickel using a seven-step sequential extraction technique in contaminated flood plain soil profiles along the Central Elbe River, Germany. *Water Air Soil Pollut*. **225**, 2039.

**Rose, JK., Bashir, S., Giovannoni, JJ., Jahn, M.M., Saravanan, RS. 2004.** Tackling the plant proteome: Practical approaches, hurdles and experimental tools. *Plant J*. **39**: 715–733.

**Rout, J R., Ram S S., Das R., Chakraborty A., Sudarshan M., and Sahoo, S L. 2013.** Copper-stress induced alterations in protein profile and antioxidant enzymes activities in the *in vitro* grown *Withania somnifera* L. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. **19**: 353–361. doi: 10.1007/s12298-013-0167-5.

**Rucinska-Sobkowiak, R. 2016.** Water relations in plants subjected to heavy metal stress. *Acta Physiol. Plant*. **38**, 257.

**Rutkowska, B., Szulc Wa., Bomze, K. 2013.** Effects of soil properties on copper speciation in soil solution. *Journal of Elementology*. **18**: 695–703

**Ryan, BM., Kirby J.K., Degryse F., Harris H., McLaughlin MJ., Scheiderich K. 2013.** Copper speciation and isotopic fractionation in plants: uptake and translocation mechanisms. *New Phytol*. **199**: 367-378.

**Ryszka, P., Lichtscheidl I., Tylko G., Turnau, K. 2019.** Symbiotic microbes of *Saxifraga stellaris* ssp. *alpigena* from the copper creek of Schwarzwand (Austrian Alps) enhance plant tolerance to copper. *Chemosphere*. **228**: 183-194.

**Sacristán, D., Carbó E. 2016.** Copper contamination in Mediterranean agricultural soils: Soil quality standards and adequate soil management practices for horticultural crops. *Soil Contamination-Current Consequences and Further Solutions*. <http://dx.doi.org/10.5772/64771>

**Saleem, MH., Kamran M., Zhou Y., Parveen A., Rehman M., Ahmar S., Liu L. 2020.** Appraising growth, oxidative stress and copper phytoextraction potential of flax (*Linum usitatissimum* L.) grown in soil differentially spiked with copper. *J. Environ. Manag*. **257**, 109994.

- Sancenon, V., Puig S., Mateu-Andres I., Dorcey E., Thiele DJ., Penarrubia L. 2004.** The Arabidopsis copper transporter COPT1 functions in root elongation and pollen development. *J Biol Chem* 279: 15348-15355.
- Sánchez-Pardo, B., Fernández-Pascual M., Zornoza P. 2012.** Copper microlocalisation, ultrastructural alterations and antioxidant responses in the nodules of white lupin and soybean plants grown under conditions of copper excess. *Environ Exp Bot.* 84:52–60.
- Sauvé, S., McBride M., Norvell W., Hendershot, W. 1997.** Copper solubility and speciation of in situ contaminated soil: effects of copper level, pH and organic matter. *Water, Air and Soil Pollution.* 133-149.
- Savithri, P., Biju J., Poongothai, S. 2003.** Effect of Copper Fungicide Sprays on the Status of Micronutrient in Soils of Hot Semi-Arid Region of India. Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore. 641:003.
- Sgherri, C., Cosi, E., & Navari-Izzo, F. 2003.** Phenols and antioxidative status of *Raphanus sativus* grown in copper excess. *Physiologia Plantarum.* 118:21–28. doi:10.1034/j.1399-3054.2003.00068
- Shabbir, Z., Sardar A., Shabbir A., Abbas G., Shamsad S., Khalid S., Natasha N., Murtaza G., Dumat C., Shahid M. 2020.** Copper uptake, essentiality, toxicity, detoxification and risk assessment in soil-plant environment, *Chemosphere.* 259, 127436. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127436>.
- Shaheen, SM., Kwon EE., Biswas JK., Tack FMG., Ok YS., Rinklebe, J. 2017.** Arsenic, chromium, molybdenum, and selenium: geochemical fractions and potential mobilization in riverine soil profiles originating from Germany and Egypt. *Chemosphere* **180**, 553–563.
- Shahid, M. 2017.** Biogeochemical behavior of heavy metals in soil-plant system. Higher Education Commission of Pakistan. pp. 1-196.
- Shahid, M., Austruy A., Echevarria G., Arshad M., Sanaullah M., Aslam M., Nadeem M., Nasim W., Dumat C. 2014a.** EDTA-Enhanced Phytoremediation of Heavy Metals: A Review. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal.* 23, 389-416.
- Shahid, M., Dumat C., Pourrut B., Sabir M., Pinelli E. 2014b.** Assessing the effect of metal speciation on lead toxicity to *Vicia faba* pigment contents. *Journal of Geochemical Exploration.* 144, 290-297.
- Shahid, M., Natasha, Dumat C., Niazi N., Xiong T., Farooq A., Khalid S. 2020.** Ecotoxicology of heavy metal(loid) enriched particulate matter: Foliar accumulation by plants and health impacts. *Rev Environ Contam Toxicol.* 253, 65-113.
- Shahid, M., Pourrut B., Dumat C., Nadeem M., Aslam M., Pinelli, E. 2014b.** Heavy-metal-induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. *Rev Environ Contamin Toxicol.* 232:1–44
- Sharma, P., Jha AB., Dubey RS., Pessarakli, M. 2012.** Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot.* 2012, 217037.

**Sharma, R., Bhardwaj R., Thukral AK., Al-Huqail AA., Siddiqui MH., Ahmad, P. 2019.** Oxidative stress mitigation and initiation of antioxidant and osmoprotectant responses mediated by ascorbic acid in *Brassica juncea* L. subjected to copper (II) stress. *Ecotoxicology and environmental safety*. 182, 109436.

**Sharma, S K., Sehkon N S., Deswal S., John S. 2009.** Transport and Fate of Copper in Soils. *International Journal of Civil and Environmental Engineering*. 1:1.

**Sharma, S S., Dietz KJ., Mimura, T.** Vacuolar compartmentalization as indispensable component of heavy metal detoxification in plants. *Plant Cell Environ*. 2016, 39, 1112–1126.

**Sharmila, P., Pardha Saradhi, P. 2002.** Proline Accumulation in Heavy Metal Stressed Plants: An Adaptive Strategy. In: Prasad M.N.V., Strzałka K. (eds) *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-2660-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-94-017-2660-3_7)

**Sheldon, AR., Menzies NW. 2005.** The Effect of Copper Toxicity on the Growth and Root Morphology of Rhodes Grass (*Chloris gayana* Knuth.) in Resin Buffered Solution Culture. *Plant Soil*. 278: 341–349. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-8815-3>

**Shields, R., Burnett, W. 1960.** Determination of protein bound carbohydrate in serum by a just modified anthrone method. *Anal. Chem*. 32: 885-886.

**Shiyab, S. 2018.** Phytoaccumulation of Copper from Irrigation Water and Its Effect on the Internal Structure of Lettuce. *Agriculture*. 8 : 29. <https://doi.org/10.3390/agriculture8020029>

**Sidhu, GPS., Bali AS., Singh HP., Batish DR., Kohli, RK. 2020.** Insights into the tolerance and phytoremediation potential of *Coronopus didymus* L. (Sm) grown under zinc stress. *Chemosphere*. 244, 125350.

**Silva, JC., Echeveste, P., Lombardi, AT. 2018.** Higher biomolecules yield in phytoplankton under copper exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 161: 57-63.

**Singh, A K., Bhatt B P., Upadhyaya A., Kumar S., Sundaram P K., Singh, B K. 2012.** Improvement of faba bean (*Vicia faba* L.) yield and quality through biotechnological approach: a review. *Afr. J. Biotechnol*. 11:15264–15271.

**Singh, D., Nath K., Sharma YK. 2007.** Response of wheat seed germination and seedling growth under copper stress. *J. Environ. Biol*. 28: 409- 414.

**Singh, R., Gautam N., Mishra A., Gupta, R .2011.** Heavy metals and living systems: An overview. *Indian J Pharmacol* 43:246–53. doi: 10.4103/0253-7613.81505.

**Singleton, VL., Rossi, JR-JA. 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*. 16:144-158

**Sinicropi, MS., Amantea D., Caruso A., Saturnino, C. 2010.** Chemical and biological properties of toxic metals and use of chelating agents for the pharmacological treatment of metal poisoning. *Arch Toxicol*. 84(7): 501-520.

**Sirhindi, G., Sharma P., Singh A., Kaur H., Mir, M. 2015.** Alteration in photosynthetic pigments, osmolytes and antioxidants in imparting copper stress tolerance by exogenous

jasmonic acid treatment in *Cajanus cajan*. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*. 7: 30-39. doi: 10.5897/IJPPB2015.0228.

**Slama, OA, Bouhaouel I., Naouar S., Slim Amara, H. 2018.** What is the response of barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*) to metallic trace elements (zinc, copper and cadmium)? Quelle est la réponse de l'orge (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*) face aux éléments traces métalliques, zinc, cuivre et cadmium?. *Journal of new sciences*. 58: 3752-3763.

**Song, Y., Zhang H., Chen C., Wang G., Zhuang K., Cui J., Shen, Z. 2014.** Proteomic analysis of copper-binding proteins in excess copperstressed rice roots by immobilized metal affinity chromatography and two-dimensional electrophoresis. *BioMetals*. 27:265–276

**Souza Junior, JCd .,Nogueirol R.C., Monteiro FA. 2019.** Nitrate and ammonium proportion plays a key role in copper phytoextraction, improving the antioxidant defense in Tanzania guinea grass. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 171: 823-832.

**Spadini, L., Schindler PW., Charlet L., Manceau A., Ragnarsdottir, KV. 2003.** Hydrous ferric oxide: evaluation of Cd–HFO surface complexation models combining Cd K EXAFS data, potentiometric titration results, and surface site structures identified from mineralogical knowledge. *Journal of Colloid and Interface Science*, 266, 1-18

**Sperdouli, I., Moustakas M. 2012.** Interaction of proline, sugars, and anthocyanins during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. *Journal of Plant Physiology*. 169: 577– 585.

**Srinivas, US., Tan BWQ., Vellayappan BA., Jeyasekharan, AD. 2018.** ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biology*. 101084.

**Sruthi, SN ., M SS., Mohan M., Ramasamy, EV. 2018.** Distribution of priority pollutants in the sediment of Vembanad Estuary, Peninsular India. *Marine Pollution Bulletin*. 133: 294-303.

**Stadtman, ER., Levine, RL. 2000.** Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci*. 899:191-208. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06187.x. PMID: 10863540.

**Stoddard, FL., Nicholas A.H., Rubiales D., Thomas J., Villegas-Fernández, AM. 2010.** Integrated pest management in faba bean. *Field Crops Res*. 115: 308–318. doi: 10.1016/j.fcr.2009.07.002.

**Sytar, O., Kumar A., Latowski D.,Latowski D., Kuczynska P.,Strzalka K., Prasad M N V. 2013.** Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. *Acta Physiol Plant*. 35, 985–999. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1169-6>.

**Tahar, K., Keltoum B. 2011.** Effects of heavy metals pollution in soil and plant in the industrial area, West Algeria. *Journal of the Korean Chemical Society*. 55: 1018–1023.

**Tamás, MJ., Sharma SK., Ibstedt S., Jacobson T., Christen, P.2014.** Heavy metals and metalloids as a cause for protein misfolding and aggregation. *Biomolecules*. 4: 252–267. doi: 10.3390/biom4010252.

**Tamez, C., Hernandez-Molina M., Hernandez-Viezcás JA., Gardea-Torresdey, JL. 2019.** Uptake, transport, and effects of nano-copper exposure in zucchini (*Cucurbita pepo*). *Sci. Total Environ*. 665: 100-106.

**Tanno, K., Willcox G. 2006.** The origins of cultivation of *Cicer arietinum* L. and *Vicia faba* L.: early finds from Tell el-Kerkh, north-west Syria, late 10th millennium B.P. *Veget. Hist. Archaeobot.* 15:197-204.

**Thomas, G., Andresen E., Mattusch J., Hubáček T., Küpper H., 2016.** Deficiency and toxicity of nanomolar copper in low irradiance—A physiological and metalloproteomic study in the aquatic plant *Ceratophyllum demersum*. *Aquatic Toxicology.* 177: 226-236.

**Thomé, OW.1885.** Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz Gera, Germany. [http://www.biolib.de/thome/band3/tafel\\_132.html](http://www.biolib.de/thome/band3/tafel_132.html)

**Thounaojam, TC., Panda P., Mazumdar P., Kumar D., Sharma GD., Sahoo L., Panda, SK. 2012.** Excess copper induced oxidative stress and responses of antioxidants in rice. *Plant Physiol Biochem.* 53:33–39.

**Tie, SG., Tang ZJ., Zhao YM., Li, W. 2014.** Oxidative damage and antioxidant response caused by excess copper in leaves of maize. *Afr J Biotechnol.* 11:4378–4384.

**Topçu, G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., Ulubelen, A. 2007.** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103: 816–822

**Toth, G., Hermann, T., Szatmari, G., Pasztor, L. 2016.** Maps of heavy metals in the soils of the European Union and proposed priority areas for detailed assessment. *Sci. Total Environ* 565, 1054–1062.

**Tournassat, C., Ferrage E., Poinsignon C., Charlet, L. 2004.** The titration of clay minerals II. Structure-based model and implications for clay reactivity. *Journal of Colloid and Interface Science.* 273 : 234-246.

**Trigueros, D., Rossini-Oliva, S. 2021.** Tissue Distribution and Biochemical Changes in Response to Copper Accumulation in *Erica australis* L. *Plants.* 10: 1428. <https://doi.org/10.3390/plants10071428>.

**Trigueros, D., Rossini-Oliva, S. 2021.** Tissue Distribution and Biochemical Changes in Response to Copper Accumulation in *Erica australis* L. *Plants,* 10, 1428. <https://doi.org/10.3390/plants10071428>.

**Troll, W., Lindsley, J.1955.** A photometric method for the determination of proline; *J.Biochem.* 655-660.

**Turco, I., Ferretti G., Bacchetti, T. 2016.** Review of the health benefits of faba bean (*Vicia faba* L.) polyphenols. *J. Food Nutr. Res.* 55: 283–293.

**Uriu-Adams, JY., Keen, CL. 2005.** Copper, oxidative stress, and human health. *Mol. Asp. 47 Med.* 26(4-5), 268-298.

**USDA (US Dept of Agriculture). 2021.** Food Data Central (Nutrient Database). <https://fdc.nal.usda.gov/>

**Vassilev, A., Lidon FC., Ramalho JC., Do Ceu Matos M., Da Graca, M .2003.** Effects of excess copper on growth and photosynthesis of barley plants. Implication with a screening test for Cu tolerance. *J Cent Eur Agric.* 4:225–236.

- Vidal, C., Larama G., Riveros A., Meneses C., Cornejo, P. 2021.** Main molecular pathways associated with copper tolerance response in *Imperata cylindrica* by de novo transcriptome assembly. *Plants*, 10, 357.
- Vinit-Dunand, F., Epron D., Alaoui-Sossé B., Badot, PM. 2002.** Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. *Plant Sci.* 163:53–558.
- Violante, A., Cozzolino V., Perelomov L., Caporale A., Pigna, M. 2010.** Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids in soil environments. *Journal of soil science and plant nutrition.* 10: 268-292.
- Vogel-Mikuš, K., Drobne D., Regvar, M. 2005.** Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonisation of pennycress *Thlaspi praecox* Wulf.(Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. *Environmental Pollution*, 133(2), 233-242.
- Wagg, C., Bender SF., Widmer F., van der Heijden, MG .2014.** Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proc Natl Acad Sci* .111:5266–5270.
- Wang, HF., Zong XX., Guan JP., Yang T., Sun XL., Ma Y., Redden, R. 2012.** Genetic diversity and relationship of global faba bean (*Vicia faba* L.) germplasm revealed by ISSR markers. *Theor Appl Genet.* 124: 789-797.
- Wang, J., Li, W., Zhang, C., Ke, S. 2010.** Physiological responses and detoxific mechanisms to Pb, Zn, Cu and Cd in young seedlings of *Paulownia fortunei*. *Journal of Environmental Sciences.* 22(12):1916-1922
- Wang, R., Shafi M., Ma J., Zhong B., Guo J., Hu X., Xu W., Yang Y., Ruan Z., Wang Y., Ye Z., Liu, D. 2018.** Effect of amendments on contaminated soil of multiple heavy metals and accumulation of heavy metals in plants. *Environ Sci Pollut Res.* 25:28695–28704.
- Whitby, H., Posacka AM., Maldonado MT., van den Berg, CMG. 2018.** Copper-binding ligands in the NE Pacific. *Marine Chemistry.* 204: 36-48.
- WHO. 2018.** A global overview of national regulations and standards for drinking-water quality. WHO, Geneva, Switzerland.
- Wilson, B., Pyatt, FB. 2007.** Heavy metal dispersion, persistence, and bioaccumulation 27 around an ancient copper mine situated in Anglesey, UK. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66(2) : 28 224-231.
- Winge, DR., Mehra, RK. 1990.** Host defenses against copper toxicity. In: *International 30 review of experimental pathology.* Academic Press. 31 : 47-83.
- Witten, S., Böhm H., Aulrich, K. 2015.** Effect of variety and environment on the contents of crude nutrients, lysine, methionine and cysteine in organically produced field peas (*Pisum sativum* L) and field beans (*Vicia faba* L). *Landbauforsch Volkenrode.* 65: 205–216.
- Woimant, F., Djebrani-Oussedik N., Poujois, A. 2019.** New tools for Wilson’s disease diagnosis: exchangeable copper fraction. *Ann Transl Med;* 7(Suppl 2):S70. doi: 10.21037/atm.2019.03.02

**World Health Organisation. 2017.** Guidelines for Drinking-Water Quality, fourth ed. 38 incorporating the first addendum, Geneva

**Wu, F. , Huang H ., Peng M ., Lai Y ., Q Ren ., Zhang J ., Huang Z ., Yang L ., Rensing C , Chen L .2021.** Adaptive Responses of *Citrus grandis* Leaves to Copper Toxicity Revealed by RNA-Seq and Physiology. *Int J Mol Sci.* 22(21): 12023.

**Wu, S., Peng S., Zhang, X. 2015.** Levels and health risk assessments of heavy metals in urban soils in Dongguan, China. *J Geochemical Explor* 148:71–78. doi: 10.1016/j.gexplo.2014.08.009.

**Wuana, RA., Okieimen, FE .2011.** Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *ISRN Ecol* doi:10.5402/2011/402647. Article ID 402647.

**Wyszkowska, J., Boros-Lajszner E., Lajszner, W. 2017.** Reaction of soil enzymes and spring barley to copper chloride and copper sulphate. *Environ Earth Sci* 76: 403. <https://doi.org/10.1007/s12665-017-6742-2>.

**Xiao, J X., Zhu Y A., Bai W L., Liu Z Y., Li T A. N. G., Zheng, Y. 2021.** Yield performance and optimal nitrogen and phosphorus application rates in wheat and faba bean intercropping. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(11), 3012–3025.

**Xiong, X., Li YX., Li W., Lin CY., Han, W .2010.** Copper content in animal manures and potential risk of soil copper pollution with animal manure use in agriculture. *Resour. Conserv. Recycl.* 54:985–990.

**Xu, JK., Yang LX., Wang ZQ., Dong GC., Huang JY., Wang, YL .2005.** Effects of soil copper concentration on growth, development and yield formation of rice (*Oryza sativa*). *Rice Sci.* 12:125–132.

**Yalcinkaya, T., Uzilday B., Ozgur R., Turkan I., Mano, Ji. 2019.** Lipid peroxidation-derived reactive carbonyl species (RCS): Their interaction with ROS and cellular redox during environmental stresses. *Environmental and Experimental Botany.* 165: 139-149.

**Yang, MJ., Yang XE ., Römheld, V. 2002.** Growth and nutrient composition of *Elsholtzia splendens* Nakai under copper toxicity. *Journal of Plant Nutrition*, 25: 1359-1375.

**Yang, R., Wang J., Zhu L., Wang J., Yang L., Mao S., Conkle J L., Chen Y., Kim, YM. 2021.** Effects of interaction between enrofloxacin and copper on soil enzyme activity and evaluation of comprehensive toxicity. *Chemosphere.*268. 129208., <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129208>.

**Yang, Z., Chen J., Dou R., Gao X., Mao C., Wang, L. 2015.** Assessment of the phytotoxicity of metal oxide nanoparticles on two crop plants, maize (*Zea mays* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* 12:15100-15109.

**Yruela, I. 2009.** Copper in plants: acquisition, transport and interactions. *Funct Plant Biol.* 36:409–430.

**Yruela, I. 2013.** Transition metals in plant photosynthesis. *Metallomics* 5: 1090–1109.

**Yuan, M., Li X., Xiao J., Wang, S. 2011.** Molecular and functional analyses of COPT/Ctr-type copper transporter-like gene family in rice. *BMC Plant Biol* 11:69.

**Yusuf, M., Saeed Almehrzi A S., Nasir Alnajjar A J., Alam P., N Elsayed., Radwan K ., Hayat, S. 2021.** Glucose modulates copper induced changes in photosynthesis, ion uptake, antioxidants and proline in *Cucumis sativus* plants. *Carbohydr Res.* 501:108271. doi: 10.1016/j.carres. 2021.108271.

**Zhang, H., Zhang, S., Meng, Q., Zou, J., Jiang, W., Liu, D. 2009.** Effects of aluminum on nucleoli in root tip cells, root growth and the antioxidant defense system in *Vicia faba* L. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica.* 51(2):99-106.

**Zhang, N., Xue C., Wang K., Fang, Z. 2020.** Efficient oxidative degradation of fluconazole by a heterogeneous Fenton process with Cu-V bimetallic catalysts. *Chemical Engineering Journal.* 380: 122516.

**Zhao, J., Sykacek P., Bodner G., Rewald, B. 2018.** Root traits of European *Vicia faba* cultivars – Using machine learning to explore adaptations to agroclimatic conditions. *Plant Cell Environ.* 41:1984-1996. doi: 10.1111/pce.13062 [Epub ahead of print].

**Zhao, SL., Liu Q., Qi YT., Duo, L .2010.** Responses of root growth and protective enzymes to copper stress in turfgrass. *Acta Biol Cracov Ser Bot.* 52:7–11.

**Zhou, L., Hou H., Yang T., Lian Y., Sun Y., Bian Z., Wang, C., 2018.** Exogenous hydrogen peroxide inhibits primary root gravitropism by regulating auxin distribution during *Arabidopsis* seed germination. *Plant Physiology and Biochemistry.* 128: 126-133.

**Zhu, Y., Chen Y., Zhang X ., Xie G ., Qin, M. 2020.** Copper stress-induced changes in biomass accumulation, antioxidant activity and flavonoid contents in *Belamcanda chinensis* calli. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 142:299–311. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01863-w>.

**Žigrai, M., Vyskočil M., Tóthová A., Vereš P., Bluska P., Valkovič, P. 2020.** Late-Onset Wilson's Disease. *Front. Med.* 7:26. doi: 10.3389/fmed.2020.00026

# Annexes

## Annexe 1

### Analyses physico-chimiques du sol

#### ➤ Texture

La texture du sol est déterminée par la méthode de Bouyoucos (1951) les particules du sable, limon et argile sont calculés par les formules suivantes :

$$\text{Argile + limon \%} = \frac{A}{\text{poids de sol (g)}} \times 100$$

$$\text{Argile \%} = \frac{B}{\text{poids de sol (g)}} \times 100$$

$$\text{Limon \%} = (\text{argile+limon}) - \text{argile}$$

$$\text{Sable \%} = 100 - (\text{argile+limon})$$

$$A = (\text{température} - 20\mu\text{m}) \times 0.36 + \text{lecture hydromètre (40 sec)}$$

$$B = (\text{température} - 20\mu\text{m}) \times 0.36 + \text{lecture hydromètre (120 min)}$$

$$\text{Température} = 18\text{C}^\circ$$

$$\text{Lecture hydromètre} = 40 \text{ sec} : 10.20 ; 120 \text{ min} : 10.05$$

#### ➤ pH (rapport 2/5 sol/eau)

Le potentiel d'hydrogène (pH) est déterminé par la méthode de **Grewelling et Peech (1960)**. La détermination de pH se fait à l'aide d'un pH-mètre avec le rapport : 2/5 sol/eau.

#### Conductivité électrique (CE) (rapport 1/10 sol/eau)

La conductivité électrique est déterminée par la méthode de **Rhoades, 1989**. La détermination de la conductivité électrique se fait à l'aide d'un conductimètre avec le rapport 1/10 sol/eau.

#### Matière organique :

La teneur en matière organique est déterminée à partir du dosage du carbone organique, lequel est dosé par la méthode **WALKLEY et BLACK, 1934** (Oxydation du carbone par un mélange sulfo-chromique à froid et titrage de l'excès de bichromate par le sel de Mohr). La teneur en MO totale est estimée selon le rapport :  $\frac{MO\%}{C\%} = 1,72$ .

#### Calcaire total :

Nous employons le calcimètre BERNARD de 100 cm<sup>3</sup> de capacité.

#### Capacité d'échange cationique

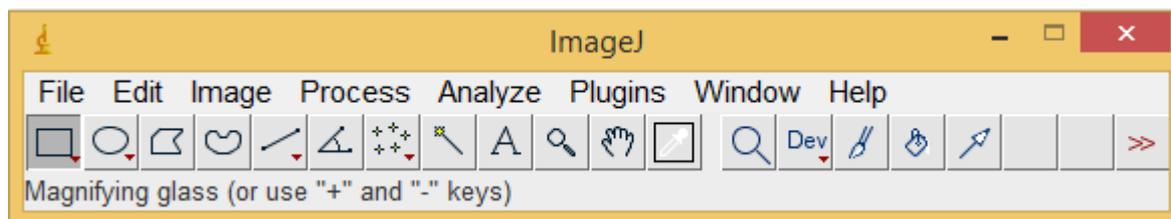
CEC mesurée par la méthode de **Metson, 1956** (après extraction des cations à l'acétate d'ammonium à pH 7) 1 (meq/100 g).

#### Granulométrie :

Nous utilisons la méthode internationale adoptée par l'Association Internationale pour la Science du Sol. Le dispersant employé est l'ammoniaque et la séparation des particules est faite par la méthode de la pipette Robinson,

## Annexe 2

Logiciel Image j



## Annexe 3

### Analyse de variance

#### 1. Hauteur de la tige

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
<b>Var. Totale</b>	3555.917	47	75.658				
<b>Var. Facteur 1</b>	2723.417	5	544.683	31.051	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	36.75	1	36.75	2.095	0.15276		
<b>Var. Inter F1*2</b>	164.25	5	32.85	1.873	0.12275		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	631.5	36	17.542			4.188	9.26%

#### 2. Nombre de folioles

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
<b>Var. Totale</b>	5005	47	106,489				
<b>Var. Facteur 1</b>	4141,75	5	828,35	40,822	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	108,001	1	108,001	5,322	0,02558		
<b>Var. Inter F1*2</b>	24,75	5	4,95	0,244	0,93891		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	730,5	36	20,292			4,505	9,53%

#### 3. Surface foliaire

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
<b>Var. Totale</b>	7079,995	47	150,638				
<b>Var. Facteur 1</b>	5316,2	5	1063,24	71,972	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	1067,854	1	1067,854	72,284	0		
<b>Var. Inter F1*2</b>	164,111	5	32,822	2,222	0,07274		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	531,83	36	14,773			3,844	7,81%

#### 4. Volume racinaires

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
<b>Var. Totale</b>	424,03	47	9,022				
<b>Var. Facteur 1</b>	294,325	5	58,865	22,014	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	3,101	1	3,101	1,16	0,28893		
<b>Var. Inter F1*2</b>	30,339	5	6,068	2,269	0,06775		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	96,265	36	2,674			1,635	13,27%

#### 5. Poids sec des racines

	<b>S.C.E</b>	<b>DDL</b>	<b>C.M.</b>	<b>TEST F</b>	<b>PROBA</b>	<b>E.T.</b>	<b>C.V.</b>
<b>Var. Totale</b>	63.769	47	1.357				
<b>Var. Facteur 1</b>	54.456	5	10.891	55.248	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	0.362	1	0.362	1.836	0.18067		
<b>Var. Inter F1*2</b>	1.855	5	0.371	1.882	0.12106		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	7.097	36	0.197			0.444	15.00%

## 6. Poids sec de la partie aérienne

	<b>S.C.E</b>	<b>DDL</b>	<b>C.M.</b>	<b>TEST F</b>	<b>PROBA</b>	<b>E.T.</b>	<b>C.V.</b>
<b>Var. Totale</b>	307,746	47	6,548				
<b>Var. Facteur 1</b>	277,116	5	55,423	74,812	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	0	1	0	0	0,98907		
<b>Var. Inter F1*2</b>	3,96	5	0,792	1,069	0,39397		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	26,67	36	0,741			0,861	10,58%

## 7. Chlorophylle a

	<b>S.C.E</b>	<b>DDL</b>	<b>C.M.</b>	<b>TEST F</b>	<b>PROBA</b>	<b>E.T.</b>	<b>C.V.</b>
<b>Var. Totale</b>	282,064	47	6,001				
<b>Var. Facteur 1</b>	263,302	5	52,66	195,272	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	1,251	1	1,251	4,638	0,03611		
<b>Var. Inter F1*2</b>	7,802	5	1,56	5,786	0,00054		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	9,708	36	0,27			0,519	7,80%

## 8. Chlorophylle b

	<b>S.C.E</b>	<b>DDL</b>	<b>C.M.</b>	<b>TEST F</b>	<b>PROBA</b>	<b>E.T.</b>	<b>C.V.</b>
<b>Var. Totale</b>	602,446	47	12,818				
<b>Var. Facteur 1</b>	567,882	5	113,576	177,36	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	0,443	1	0,443	0,691	0,41617		
<b>Var. Inter F1*2</b>	11,069	5	2,214	3,457	0,01188		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	23,053	36	0,64			0,8	10,77%

## 9. Caroténoïdes

	<b>S.C.E</b>	<b>DDL</b>	<b>C.M.</b>	<b>TEST F</b>	<b>PROBA</b>	<b>E.T.</b>	<b>C.V.</b>
<b>Var. Totale</b>	145,179	47	3,089				
<b>Var. Facteur 1</b>	99,477	5	19,895	26,029	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	12,761	1	12,761	16,694	0,00029		
<b>Var. Inter F1*2</b>	5,424	5	1,085	1,419	0,24015		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	27,517	36	0,764			0,874	14,59%

## 10. Protéines

	<b>S.C.E</b>	<b>DDL</b>	<b>C.M.</b>	<b>TEST F</b>	<b>PROBA</b>	<b>E.T.</b>	<b>C.V.</b>
<b>Var. Totale</b>	7904,975	47	168,191				

<b>Var. Facteur 1</b>	7094,933	5	1418,987	104,113	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	68,308	1	68,308	5,012	0,02986		
<b>Var. Inter F1*2</b>	251,079	5	50,216	3,684	0,00861		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	490,656	36	13,629			3,692	10,11%

#### 11. Teneur relative en eau

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
<b>Var. Totale</b>	3985,454	47	84,797				
<b>Var. Facteur 1</b>	2888,301	5	577,66	27,704	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	205,728	1	205,728	9,867	0,00342		
<b>Var. Inter F1*2</b>	140,797	5	28,159	1,351	0,26531		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	750,629	36	20,851			4,566	7,33%

#### 12. Proline

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
<b>Var. Totale</b>	15158,07	47	322,512				
<b>Var. Facteur 1</b>	11672,92	5	2334,584	39,548	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	684,962	1	684,962	11,603	0,00174		
<b>Var. Inter F1*2</b>	675,026	5	135,005	2,287	0,06597		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	2125,157	36	59,032			7,683	8,82%

#### 13. Sucres solubles

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
<b>Var. Totale</b>	7523,545	47	160,075				
<b>Var. Facteur 1</b>	6149,294	5	1229,859	44,915	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	263,47	1	263,47	9,622	0,00378		
<b>Var. Inter F1*2</b>	125,032	5	25,006	0,913	0,48459		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	985,749	36	27,382			5,233	9,51%

#### 14. Teneur en Polyphénols totaux

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
<b>Var. Totale</b>	26660,73	47	567,25				
<b>Var. Facteur 1</b>	23780,01	5	4756,001	137,804	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	1397,551	1	1397,551	40,494	0		
<b>Var. Inter F1*2</b>	240,711	5	48,142	1,395	0,24882		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	1242,461	36	34,513			5,875	6,37%

#### 15. Teneur en flavonoïdes (TFC)

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
<b>Var. Totale</b>	9246,749	47	196,739				
<b>Var. Facteur 1</b>	7001,681	5	1400,336	53,207	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	1255,95	1	1255,95	47,721	0		
<b>Var. Inter F1*2</b>	41,638	5	8,328	0,316	0,89967		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	947,48	36	26,319			5,13	17,85%

#### 16. Activité Catalase (CAT)

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
<b>Var. Totale</b>	0,07	47	0,001				
<b>Var. Facteur 1</b>	0,065	5	0,013	119,406	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	0	1	0	1,719	0,19527		

<b>Var. Inter F1*2</b>	0,001	5	0	2,588	0,04213		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	0,004	36	0			0,01	8,81%

#### 17. Activité Peroxydase (POD)

	<b>S.C.E</b>	<b>DDL</b>	<b>C.M.</b>	<b>TEST F</b>	<b>PROBA</b>	<b>E.T.</b>	<b>C.V.</b>
<b>Var. Totale</b>	1,064	47	0,023				
<b>Var. Facteur 1</b>	0,944	5	0,189	239,488	0		
<b>Var. Facteur 2</b>	0,061	1	0,061	77,92	0		
<b>Var. Inter F1*2</b>	0,03	5	0,006	7,739	0,00006		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	0,028	36	0,001			0,028	3,69%

#### 18. Accumulation Cu dans les racines

	<b>S.C.E</b>	<b>DDL</b>	<b>C.M.</b>	<b>TEST F</b>	<b>PROBA</b>	<b>E.T.</b>	<b>C.V.</b>
<b>Var. Totale</b>	872433.1	47	18562.41				
<b>Var. Facteur 1</b>	864788.8	5	172957.8	1122.875	<b>0</b>		
<b>Var. Facteur 2</b>	857.25	1	857.25	5.565	<b>0.02271</b>		
<b>Var. Inter F1*2</b>	1241.938	5	248.388	1.613	<b>0.18083</b>		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	5545.125	36	154.031			12.411	7.07%

#### 19. Accumulation Cu dans la partie aérienne

	<b>S.C.E</b>	<b>DDL</b>	<b>C.M.</b>	<b>TEST F</b>	<b>PROBA</b>	<b>E.T.</b>	<b>C.V.</b>
<b>Var. Totale</b>	176380	47	3752.766				
<b>Var. Facteur 1</b>	173511.8	5	34702.37	675.158	<b>0</b>		
<b>Var. Facteur 2</b>	339.438	1	339.438	6.604	<b>0.01389</b>		
<b>Var. Inter F1*2</b>	678.375	5	135.675	2.64	<b>0.039</b>		
<b>Var. Résiduelle 1</b>	1850.359	36	51.399			7.169	8.60%

## Annexe 4

### Comparaisons de moyennes TEST DE NEWMAN-KEULS - SEUIL = 5%

#### 1. Hauteur de la tige

**FACTEUR 1 : Cu Dose**

<b>F1</b>	<b>LIBELLES</b>	<b>MOYENNES</b>	<b>GROUPES HOMOGENES</b>			
1.0	F1n1	55.125	A			
2.0	F1n2	53.125	A			
3.0	F1n3	48		B		
4.0	F1n4	40.625			C	
5.0	F1n5	40.5			C	
6.0	F1n6	33.875				D

#### 2. Nombre de folioles

**FACTEUR 1 : Cu Dose**

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
1.0	F1n1	59,25	A			
2.0	F1n2	55,125	A			
3.0	F1n3	53,625		B		
4.0	F1n4	41,25			C	
5.0	F1n5	41			C	
6.0	F1n6	33,25				D

**FACTEUR 2** : Variété

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
2.0	F2n2	48,75	A			
1.0	F2n1	45,75			B	

### 3. Surface foliaaire

FACTEUR 1 : Cu Dose

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES				
1.0	F1n1	60,725	A				
2.0	F1n2	58,675	A				
3.0	F1n3	55,813		B			
4.0	F1n4	49,388			C		
5.0	F1n5	37,888				D	
6.0	F1n6	32,763					E

FACTEUR 2 : Variété

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
2.0	F2n2	53,925	A			
1.0	F2n1	44,492			B	

### 4. Volume racinaires

FACTEUR 1 : Cu Dose

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
1.0	F1n1	15,463	A			
2.0	F1n2	14,538	A			
3.0	F1n3	14,25	A			
4.0	F1n4	10,413			B	
5.0	F1n5	10,038			B	
6.0	F1n6	9,25			B	

### 5. Poids sec des racines

FACTEUR 1 : Cu\_

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
1.0	F2n1	4,239	A			
2.0	F2n2	4,09	A			
3.0	F2n3	3,518		B		
4.0	F2n4	2,417			C	

5.0	F2n5	2,176			C	
6.0	F2n6	1,325				D

## 6. Poids sec de la partie aérienne

FACTEUR 1 : Cu\_

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
1.0	F2n1	11,298	A			
2.0	F2n2	10,563	A			
3.0	F2n3	9,181		B		
5.0	F2n5	6,706			C	
4.0	F2n4	6,544			C	
6.0	F2n6	4,519				D

## 7. Chlorophylle a

- FACTEUR 1 : Cu Dose

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES				
1.0	F1n1	9,534	A				
2.0	F1n2	9,188	A				
3.0	F1n3	8,019		B			
4.0	F1n4	5,201			C		
5.0	F1n5	4,392				D	
6.0	F1n6	3,636					E

- FACTEUR 2 : Variété

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
2.0	F2n2	6,823	A	
1.0	F2n1	6,5		B

- INTER F1\*2 : Cu Dose-Variété

F1 F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES				
1.0 1.0	F1n1 F2n1	9,905	A				
2.0 2.0	F1n2 F2n2	9,198	A	B			
2.0 1.0	F1n2 F2n1	9,178	A	B			
1.0 2.0	F1n1 F2n2	9,163	A	B			
3.0 2.0	F1n3 F2n2	8,364		B	C		
3.0 1.0	F1n3 F2n1	7,675			C		
4.0 1.0	F1n4 F2n1	5,428				D	
5.0 2.0	F1n5 F2n2	5,21				D	
4.0 2.0	F1n4 F2n2	4,975				D	
6.0 2.0	F1n6 F2n2	4,031					E
5.0 1.0	F1n5 F2n1	3,575					E
6.0 1.0	F1n6 F2n1	3,242					E

## 8. Chlorophylle b

INTER F1\*2 : Cu Dose-Variété

FACTEUR 1 : Cu Dose

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES				
1.0	F1n1	11,798	A				
2.0	F1n2	11,108	A				
3.0	F1n3	9,307		B			
4.0	F1n4	5,083			C		
5.0	F1n5	4,161				D	
6.0	F1n6	3,111					E

F1	F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES				
1.0	2.0	F1n1 F2n2	11,922	A				
1.0	1.0	F1n1 F2n1	11,674	A				
2.0	1.0	F1n2 F2n1	11,519	A				
2.0	2.0	F1n2 F2n2	10,698	A	B			
3.0	1.0	F1n3 F2n1	9,704		B	C		
3.0	2.0	F1n3 F2n2	8,909			C		
4.0	1.0	F1n4 F2n1	5,815				D	
5.0	2.0	F1n5 F2n2	4,904				D	E
4.0	2.0	F1n4 F2n2	4,351				E	F
5.0	1.0	F1n5 F2n1	3,418					F
6.0	2.0	F1n6 F2n2	3,208					F
6.0	1.0	F1n6 F2n1	3,013					F

## 9. Caroténoïdes

FACTEUR 1 : Cu Dose

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES				
1.0	F1n1	7,976	A				
2.0	F1n2	7,426	A				
3.0	F1n3	6,557		B			
4.0	F1n4	5,406			C		
5.0	F1n5	4,404					D
6.0	F1n6	4,187					D

FACTEUR 2 : Variété

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	F2n1	6,508	A	
2.0	F2n2	5,477		B

## 10. Protéines

FACTEUR 1 : Cu Dose

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES					
2.0	F1n2	52,4	A					
1.0	F1n1	48,458		B				
3.0	F1n3	41,541			C			
4.0	F1n4	32,678				D		
5.0	F1n5	26,154					E	
6.0	F1n6	17,953						F

FACTEUR 2 : Variété

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
2.0	F2n2	37,723	A	
1.0	F2n1	35,338		B

INTER F1\*2 : Cu Dose-Variété

F1	F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES						
2.0	2.0	F1n2 F2n2	56,75	A						
1.0	2.0	F1n1 F2n2	51,25		B					
2.0	1.0	F1n2 F2n1	48,05		B	C				
1.0	1.0	F1n1 F2n1	45,665		B	C	D			
3.0	1.0	F1n3 F2n1	42,94			C	D			
3.0	2.0	F1n3 F2n2	40,142				D	E		
4.0	1.0	F1n4 F2n1	34,86					E	F	
4.0	2.0	F1n4 F2n2	30,495						F	G
5.0	2.0	F1n5 F2n2	28,043							G
5.0	1.0	F1n5 F2n1	24,265							G
6.0	2.0	F1n6 F2n2	19,66							
6.0	1.0	F1n6 F2n1	16,245							
F1n5 F2n1		H								
F1n6 F2n2		H	I							
F1n6 F2n1			I							

### 11. Teneur relative en eau

FACTEUR 1 : Cu Dose

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
1.0	F1n1	72,718	A			
2.0	F1n2	70,012	A			
3.0	F1n3	65,028		B		
4.0	F1n4	60,178			C	
5.0	F1n5	54,471				D
6.0	F1n6	51,355				D

FACTEUR 2 : Variété

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
2.0	F2n2	64,364	A	
1.0	F2n1	60,223		B

### 12. Proline

FACTEUR 1 : Cu Dose

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES		
6.0	F1n6	109,347	A		
5.0	F1n5	95,155		B	
4.0	F1n4	93,128		B	
3.0	F1n3	91,259		B	
2.0	F1n2	69,892			C
1.0	F1n1	63,657			C

FACTEUR 2 : Variété

<b>F2</b>	<b>LIBELLES</b>	<b>MOYENNES</b>	<b>GROUPES HOMOGENES</b>	
2.0	F2n2	90,851	A	
1.0	F2n1	83,295		B

### 13. Sucres solubles

FACTEUR 1 : Cu Dose

<b>F1</b>	<b>LIBELLES</b>	<b>MOYENNES</b>	<b>GROUPES HOMOGENES</b>		
6.0	F1n6	67,159	A		
4.0	F1n4	65,165	A		
5.0	F1n5	63,098	A		
3.0	F1n3	54,737		B	
2.0	F1n2	41,038			C
1.0	F1n1	38,971			C

FACTEUR 2 : Variété

<b>F2</b>	<b>LIBELLES</b>	<b>MOYENNES</b>	<b>GROUPES HOMOGENES</b>	
1.0	F2n1	57,371	A	
2.0	F2n2	52,685		B

### 14. Teneur en Polyphénols totaux

FACTEUR 1 : Cu Dose

<b>F1</b>	<b>LIBELLES</b>	<b>MOYENNES</b>	<b>GROUPES HOMOGENES</b>		
5.0	F1n5	116,229	A		
6.0	F1n6	114,563	A		
4.0	F1n4	100,521		B	
3.0	F1n3	97,875		B	
2.0	F1n2	62,917			C
1.0	F1n1	61,604			C

FACTEUR 2 : Variété

<b>F2</b>	<b>LIBELLES</b>	<b>MOYENNES</b>	<b>GROUPES HOMOGENES</b>	
2.0	F2n2	97,681	A	
1.0	F2n1	86,889		B

### 15. Teneur en flavonoïdes (TFC)

FACTEUR 1 : Cu Dose

<b>F1</b>	<b>LIBELLES</b>	<b>MOYENNES</b>	<b>GROUPES HOMOGENES</b>			
6.0	F1n6	50,941	A			
5.0	F1n5	37,661		B		
4.0	F1n4	25,319			C	
3.0	F1n3	24,298			C	
2.0	F1n2	17,106				D
1.0	F1n1	17,081				D

FACTEUR 2 : Variété

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
2.0	F2n2	33,849	A	
1.0	F2n1	23,619		B

**16. Activité Catalase (CAT)**

FACTEUR 1 : Cu Dose

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
6.0	F1n6	0,177	A			
5.0	F1n5	0,155		B		
4.0	F1n4	0,112			C	
3.0	F1n3	0,108			C	
2.0	F1n2	0,082				D
1.0	F1n1	0,075				D

INTER F1\*2 : Cu Dose-Variété

F1 F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES						
6.0 2.0	F1n6 F2n2	0,18	A						
6.0 1.0	F1n6 F2n1	0,175	A						
5.0 1.0	F1n5 F2n1	0,158		B					
5.0 2.0	F1n5 F2n2	0,152		B					
3.0 2.0	F1n3 F2n2	0,121			C				
4.0 1.0	F1n4 F2n1	0,114			C				
4.0 2.0	F1n4 F2n2	0,11			C	D			
3.0 1.0	F1n3 F2n1	0,096				D	E		
2.0 2.0	F1n2 F2n2	0,086					E	F	
2.0 1.0	F1n2 F2n1	0,078					E	F	
1.0 1.0	F1n1 F2n1	0,077					E	F	
1.0 2.0	F1n1 F2n2	0,073							F

**17. Activité Peroxydase (POD)**

FACTEUR 1 : Cu Dose

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
6.0	F1n6	0,946	A			
5.0	F1n5	0,934	A			
4.0	F1n4	0,785		B		
3.0	F1n3	0,675			C	
2.0	F1n2	0,61				D
1.0	F1n1	0,609				D

FACTEUR 2 : Variété

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	F2n1	0,796	A	
2.0	F2n2	0,724		B

INTER F1\*2 : Cu Dose-Variété

F1 F2	LIBELLES	MOYENNE S	GROUPES HOMOGENES						
6.0 1.0	F1n6 F2n1	0,969	A						
5.0 2.0	F1n5 F2n2	0,935	A						
5.0 1.0	F1n5 F2n1	0,933	A						
6.0 2.0	F1n6 F2n2	0,923	A						
4.0 1.0	F1n4 F2n1	0,845		B					
4.0 2.0	F1n4 F2n2	0,725			C				
3.0 1.0	F1n3 F2n1	0,712			C				
2.0 1.0	F1n2 F2n1	0,685			C				
3.0 2.0	F1n3 F2n2	0,639				D			
1.0 1.0	F1n1 F2n1	0,631				D			
1.0 2.0	F1n1 F2n2	0,587					E		
2.0 2.0	F1n2 F2n2	0,536							F

### 18. Accumulation Cu dans les racines

FACTEUR 1 : Cu Doses

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES						
6.0	F1n6	348.835	A						
5.0	F1n5	325.79		B					
4.0	F1n4	231.035			C				
3.0	F1n3	99.985				D			
2.0	F1n2	39.222					E		
1.0	F1n1	7.845							F

FACTEUR 2 : Variété

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	F2n1	179.678	A	
2.0	F2n2	171.226		B

### 19. Accumulation Cu dans la partie aérienne

FACTEUR 1 : Cu Doses

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES						
6.0	F1n6	170.762	A						
5.0	F1n5	150.151		B					
4.0	F1n4	82.575			C				
3.0	F1n3	63.194				D			
2.0	F1n2	29.637					E		
1.0	F1n1	4.016							F

FACTEUR 2 : Variété

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
2.0	F2n2	86.049	A	
1.0	F2n1	80.73		B

INTER F1\*2 : Cu Doses-Variété

F1 F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES						
6.0 2.0	F1n6 F2n2	178.234	A						
6.0 1.0	F1n6 F2n1	163.291		B					
5.0 2.0	F1n5 F2n2	150.398			C				
5.0 1.0	F1n5 F2n1	149.904			C				
4.0 1.0	F1n4 F2n1	85.303				D			
4.0 2.0	F1n4 F2n2	79.848				D			
3.0 2.0	F1n3 F2n2	68.983					E		
3.0 1.0	F1n3 F2n1	57.406						F	
2.0 2.0	F1n2 F2n2	35.14							G
2.0 1.0	F1n2 F2n1	24.134							
1.0 1.0	F1n1 F2n1	4.344							
1.0 2.0	F1n1 F2n2	3.689							

LIBELLES									
F1n2 F2n1	H								
F1n1 F2n1		I							
F1n1 F2n2		I							

## Annexe 5

### Corrélation des paramètres étudiés Pour V1

Correlation		A	B	C	D	E	F
		CuSO4 vs. Hauteur T	CuSO4 vs. Nombre des folioles	CuSO4 vs. Surface foliaires	CuSO4 vs. Volume racinaire	CuSO4 vs. Root dw	CuSO4 vs. Shoot dw
1	<b>Pearson r</b>						
2	r	-0.8718	-0.8833	-0.8777	-0.9032	-0.9342	-0.9120
3	95% confidence interval	-0.9434 to -0.7225	-0.9487 to -0.7456	-0.9461 to -0.7342	-0.9577 to -0.7862	-0.9715 to -0.8519	-0.9616 to -0.8046
4	R squared	0.7601	0.7802	0.7703	0.8157	0.8728	0.8317
5							
6	<b>P value</b>						
7	P (two-tailed)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
8	P value summary	****	****	****	****	****	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
10							
11	<b>Number of XY Pairs</b>	24	24	24	24	24	24

Correlation		G	H	I	J	K	L
		CuSO4 vs. Ch a	CuSO4 vs. Ch b	CuSO4 vs. Caroti	CuSO4 vs. protein	CuSO4 vs. Rwc	CuSO4 vs. proline
1	<b>Pearson r</b>						
2	r	-0.9701	-0.9517	-0.8519	-0.9062	-0.8597	0.8418
3	95% confidence interval	-0.9872 to -0.9311	-0.9792 to -0.8899	-0.9342 to -0.6834	-0.9590 to -0.7924	-0.9379 to -0.6986	0.6638 to 0.9295
4	R squared	0.9411	0.9056	0.7258	0.8211	0.7391	0.7086
5							
6	<b>P value</b>						
7	P (two-tailed)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
8	P value summary	****	****	****	****	****	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
10							
11	<b>Number of XY Pairs</b>	24	24	24	24	24	24

Correlation		M	N	O	P	Q	R	S
		CuSO4 vs. sucres	CuSO4 vs. Flavonoide	CuSO4 vs. poly phenol	CuSO4 vs. activ peroxy	CuSO4 vs. Activity cat	CuSO4 vs. Cu Root	CuSO4 vs. Cu Shoot
1	<b>Pearson r</b>							
2	r	0.8682	0.8712	0.8991	0.9670	0.9297	0.9758	0.9784
3	95% confidence interval	0.7154 to 0.9418	0.7213 to 0.9431	0.7777 to 0.9558	0.9240 to 0.9858	0.8421 to 0.9695	0.9439 to 0.9896	0.9498 to 0.9907
4	R squared	0.7538	0.7590	0.8083	0.9350	0.8643	0.9521	0.9572
5								
6	<b>P value</b>							
7	P (two-tailed)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
8	P value summary	****	****	****	****	****	****	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
10								
11	<b>Number of XY Pairs</b>	24	24	24	24	24	24	24

Pour V2

Correlation		A	B	C	D	E	F	G
		CuSO4 vs. Hauteur T	CuSO4 vs. Nombre des folioles	CuSO4 vs. Surface foliaires	CuSO4 vs. Volume racinaire	CuSO4 vs. Root dw	CuSO4 vs. Shoot dw	CuSO4 vs. Chl a
1	<b>Pearson r</b>							
2	r	-0.8654	-0.9185	-0.9426	-0.6773	-0.8914	-0.9419	-0.9172
3	95% confidence interval	-0.9405 to -0.7098	-0.9645 to -0.8182	-0.9752 to -0.8701	-0.8488 to -0.3769	-0.9524 to -0.7621	-0.9749 to -0.8685	-0.9639 to -0.8155
4	R squared	0.7489	0.8436	0.8885	0.4588	0.7947	0.8872	0.8412
5								
6	<b>P value</b>							
7	P (two-tailed)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0003	<0.0001	<0.0001	<0.0001
8	P value summary	****	****	****	***	****	****	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
10								
11	<b>Number of XY Pairs</b>	24	24	24	24	24	24	24

Correlation		H	I	J	K	L	M	N
		CuSO4 vs. Chl b	CuSO4 vs. carotin	CuSO4 vs. protein	CuSO4 vs. Rwc	CuSO4 vs. proline	CuSO4 vs. sucres	CuSO4 vs. Flavonoide
1	<b>Pearson r</b>							
2	r	-0.9367	-0.8645	-0.9287	-0.8830	0.8794	0.8609	0.8834
3	95% confidence interval	-0.9726 to -0.8571	-0.9401 to -0.7081	-0.9690 to -0.8399	-0.9485 to -0.7450	0.7377 to 0.9469	0.7010 to 0.9384	0.7458 to 0.9487
4	R squared	0.8773	0.7474	0.8624	0.7797	0.7733	0.7412	0.7804
5								
6	<b>P value</b>							
7	P (two-tailed)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
8	P value summary	****	****	****	****	****	****	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
10								
11	<b>Number of XY Pairs</b>	24	24	24	24	24	24	24

Correlation		N	O	P	Q	R	S
		CuSO4 vs. Flavonoide	CuSO4 vs. poly phenol	CuSO4 vs. activ peroxy	CuSO4 vs. Activity cat	CuSO4 vs. Cu Root	CuSO4 vs. Cu Shoot
1	<b>Pearson r</b>						
2	r	0.8834	0.9207	0.9154	0.9386	0.9751	0.9768
3	95% confidence interval	0.7458 to 0.9487	0.8230 to 0.9655	0.8118 to 0.9631	0.8613 to 0.9734	0.9424 to 0.9893	0.9464 to 0.9901
4	R squared	0.7804	0.8477	0.8380	0.8809	0.9508	0.9542
5							
6	<b>P value</b>						
7	P (two-tailed)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
8	P value summary	****	****	****	****	****	****
9	Significant? (alpha = 0.05)	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
10							
11	<b>Number of XY Pairs</b>	24	24	24	24	24	24