



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de Recherche Biodiversité et Conservation des Eaux et des Sols

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**Rechidi Fadila**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES**

**Spécialité : Biodiversité et environnement**

THÈME

**Effet combiné de la salinité et métaux  
lourds (Cuivre et Zinc) sur la germination de  
la fève (*Vicia faba* L.)**

Soutenu publiquement le 18/ 09/2018

DEVANT LE JURY

Président	Dr. Arbaoui Mohamed	U. Mostaganem
Examineur	Mme. Mostari Abbassia	U. Mostaganem
Encadreur	Pr. Reguieg Yssaad H.A	U. Mostaganem
Co-encadreur	Mme Bouker Hadjer	U. Mostaganem

# *Remerciement*

*Avant tout, je dois remercier **ALLAH** qui m'a donné l'envie et la force*

*Pour mener à terme ce travail*

*Au terme de ce travail, il m'est agréable d'exprimer ma profonde reconnaissance à l'égard du Monsieur le Professeur **REGUIEG YSSAAD Houcine Abdelhakim** chef de spécialité de biodiversité et environnement à université de Mostaganem, je le remercie pour ses compétences scientifiques et ses qualités humaines ainsi que pour ses critiques constructives et ses conseils qui m'ont poussé à aller de l'avant et à approfondir mes connaissances scientifiques*

*A travers ce mémoire du master, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à l'encadreur le Monsieur d'avoir accepté de bon gré de participer à cette mémoire. Ainsi que pour ses efforts fournis, pour ses conseils judicieux prodigués et pour sa patience et sa persévérance dans notre suivi*

*Mes remerciements au **Dr Arbaoui Mohamed** pour avoir accepté de présider jury de thèse.*

*Je tiens également à remercier **Mme Mostari Abassia** qui m'a fait l'honneur de juger ce travail*

*Je tiens également à exprimer ma profonde reconnaissance à **Mr Zerhouni, Mr et Mme Dahmouni, Mme Ghoumari, Mme Sekal, Mr Djibaoui, Mme Mostari Mr Abed, Mr Dahloun** Des enseignants à l'Université de Mostaganem .*

*Mes remerciements pour toute l'équipe de laboratoire de biologie centre universitaire de Mostaganem, mes collègues de travail **Mme Faradji Jamiia, Mme ouarani Nouria, Mme Sabria, Mr Souane, Mr Djilali, Mr Abaidi** pour leurs aides et soutiens .*

*Mes remerciements et ma reconnaissance s'adressent également à toute l'équipe de la bibliothèque dont je cite ma collègue **AMEL**.*

*Mes sincères sentiment je les adresse à toute personne qui m'a connu et m'a souhaité la réussite dans mes études.*

*Je tiens à remercier spécialement **Mr Dahloun** pour le temps qui me la adresser afin de terminer ce travail à temps.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de tant d'années d'étude :  
à toutes les personnes proches de mon cœur, surtout à mes chers  
parents*

*A ma très chère maman qui m'a soutenu tout au long de mes études  
et qui s'est sacrifiée énormément pour me voir réussir et arriver à ce  
stade :*

*A mon père que je lui dois tout le respect et l'amour*

*A la mémoire de mon beau père Amir Abdelmadjid, que le bon dieu  
le choisi parmi les gens du paradis :*

*A mon mari pour ses intenses encouragements, sa présence et son  
soutien le long de mes études :*

*A mes enfants : Mohamed Khalil, Ahmed Azzedine, Abdel  
Moumen ;*

*A mon frère Fadl el Rahman, mes sœurs, leurs maris et leurs  
enfants*

*A mes beaux-frères, leurs femmes et leurs enfants :*

*A Rbia et ses enfants*

*A mes chère amies et collègues de travail ; Jamia, Noria, Amel,  
Sabria.*

## Résumé

A l'heure actuelle, la salinité et la pollution des sols sont des problèmes environnementaux les plus étudiés. Dans ce contexte, le présent travail, a pour but de suivre les effets du stress salin, métallique, cas cuivre et zinc et stress combiné sur la germination de la fève *Vicia faba* L., afin de prononcer sur sa capacité germinative sous différentes conditions. La germination est réalisée in vitro, les graines sont mises à germer à une température de 23°C, en présence des solutions stressées à différentes concentrations : solution de NaCl (0, 100, 200 meq), solutions métalliques avec sulfate de cuivre (0, 100, 300, 500 ppm) et sulfate de zinc (0, 300, 500, 700 ppm) et leurs combinaisons. Pendant une durée de 21 jours d'expérience, les analyses physiologiques montrent l'effet inhibiteur de NaCl à la dose de 200 meq. L'effet des métaux est bénéfique au déclenchement de la germination avec un taux de germination supérieur à 90% pour toutes les concentrations utilisées, sauf, le cas combiné avec 200meq en Nacl avec un taux de germination réduit à 30% pour les deux métaux. Les résultats obtenus montrent que les graines de *Vicia faba* L. tolèrent le sel à la concentration de 100 meq, cependant, le cuivre et le zinc sont des métaux indispensables pour la germination. Le matériel végétal utilisé est un bon indicateur d'une contamination des sols par l'excès de sel et métaux lourds au cours de la germination des graines, car elles possèdent des propriétés sensibles à ces contraintes abiotiques.

**Mots clés :** Germination, Cu, Stress métalliques, Stress salin, *Vicia faba* L., Zn.

## **Abstract**

At present, salinity and soil pollution are the most studied environmental problems. In this context, the present work aims to monitor the effects of salt, metal, copper and zinc stress and combined stress on the germination of *the Vicia faba* L. bean, in order to pronounce on its germinability under these conditions.

The germination was carried out in vitro, the seeds are germinated at a temperature of 23°C, in the presence of the solutions stressed at different concentrations: solution of NaCl (0, 100, 200 meq), metallic solution with copper sulfate (0, 100, 300, 500 ppm) and sulfate of zinc (0, 300, 500, 700 ppm) and finally the combined solutions. For a period of 21 days of experience.

The physiological analysis showed the inhibitory effect of NaCl at the dose of 200 meq. The effect of the metals was beneficial at the initiation of germination with a germination rate higher than 90% for all the concentrations used except the case combined with 200 meq in NaCl with a germination rate reduced to 30% for both metals.

The results obtained show that the seeds of *Vicia faba* L., tolerate the salt at a concentration of 100 meq and that copper and zinc are indispensable metals for the initiation of germination.

The plant material used is a good indicator of soil contamination by excess salt and heavy metals during seed germination, as they have properties sensitive to these abiotic constraints.

**Keywords :** Germination, Cu, Metal Stress, Salinity, *Vicia faba* L., Zn.

# Sommaire

## Partie bibliographique

Introduction.....	1
-------------------	---

### Chapitre 1 : La Salinité

1. Définition.....	2
1.1 Les sols salés.....	3
1.2 Origine de la salinité des sols.....	4
1.3 Importance de la salinité.....	4
1.4 Importance de la salinité sur la qualité du sol.....	4
2. Salinité et plante.....	4
2.1 Définition de stress.....	5
2.2 Formes de stress.....	5
2.2.1 Biotique.....	5
2.2.2 Abiotique.....	5
2.3 Effet du stress salin sur la plante.....	6
2.3.1 Effet de la salinité sur le stade physiologique de la plante.....	8
2.3.2 Tolérance des plante à la salinité.....	8

### Chapitre 2 : Généralités sur les métaux lourds

1. Définition des métaux lourds.....	9
2. Les métaux essentiels.....	9
3. Les métaux toxiques.....	10
4. Origine de la contamination des sols par les métaux lourds.....	11
4.1 Origine naturelle.....	11
4.2 Origine anthropique.....	11
4.3 Pollution par les métaux lourds cas (Cuivre,Zinc).....	12
4.3.1 Le Cuivre.....	12
4.3.2 Le Cuivre dans le sol.....	12
4.3.3 Déficience du Cuivre dans les sols.....	13

4.3.4 Rôle du Cuivre dans la plante.....	13
4.3.5 Absorption et distribution du Cuivre dans la plante.....	14
4.4 Le Zinc.....	14
4.4.1 Le Zinc dans le sol.....	15
4.4.2 Déficience des sols en Zinc.....	15
4.4.3 Le rôle du Zinc dans la plante.....	15
4.4.4 Absorption et distribution du Zinc dans la plante.....	17
4.4.5 Déficience, tolérance et toxicité du Zinc chez les végétaux..	18
4.4.6 Modes de penetration des ETMs dans la plante.....	18
4.4.7 Tolérance des plantes aux fortes concentrations en ETMs dans le sol.....	19
4.4.8 Mécanismes physiologiques de la tolérance aux métaux.....	21

### Chapitre 3 : Présentation de la plante

1. La fève (Vicia faba L.).....	22
2. Origine historique de la fève.....	23
3. Taxonomie et caractéristique botanique.....	23
3.1 Classification.....	23
3.2 Description botanique.....	24
3.3 Importance agro-économique et nutritionnelle de la fève....	27
3.4 Intérêt en ecotoxicologie.....	27

### Partie expérimentale

1. But de l'essai.....	29
2. Matériel et méthodes.....	29
2.1 Matériel végétal.....	29
2.2 Méthode d'étude.....	31
2.2.1 Site de l'essai.....	31
2.2.2 Conduite à l'essai.....	31
2.2.3 Préparation des solutions.....	31
2.2.4 Préparation des boîtes pétries.....	32

2.3 Paramètres étudiés	
2.3.1 Taux de germination.....	34
2.3.2 Vitesse de germination.....	35
2.3.3 Cinétique de germination.....	35
3. Analyse statistique.....	35

### Partie Résultats et Discussion

1. Effet de la salinité sur le taux de germination des graines de <i>Vicia faba.L</i> .....	36
2. Effet des métaux lourds sur le taux de germination de graine de <i>Vicia faba.L</i> .....	36
2.1 Effet du Cuivre sur le taux de germination de la fève.....	37
2.2 Effet du Zinc sur le taux de germination de la fève.....	37
3. Effet combiné Salinité et métaux lourds cas (Cu ,Zn) sur la germination de la fève.....	38

Discussion.....	45
-----------------	----

Conclusion.....	44
-----------------	----

Références bibliographiques.....	46
----------------------------------	----

## Liste des tableaux

Tableau. 1	Classification des éléments chimiques nécessaires aux plantes.....	9
Tableau. 2	Composition chimique moyenne pour 100g de fève.....	25
Tableau. 3	Préparation de la solution saline NaCl.....	27
Tableau. 4	Préparation de la solution de CuSO <sub>4</sub> .....	27
Tableau. 5	Préparation de solution de ZnSO <sub>4</sub> .....	28
Tableau. 6	Valeurs des Taux de germination de <i>Vicia faba</i> L. sous effet salin.....	33
Tableau. 7	Les valeurs des taux de germinations des graines stressées avec CuSO <sub>4</sub> .....	33
Tableau. 8	Les valeurs des taux de germination des graines stressées avec ZnSO <sub>4</sub> .....	34
Tableau. 9	Les valeurs des taux de germination des graines de <i>Vicia faba</i> L. Sous effet combiné du stress NaCl/CuSO <sub>4</sub> .....	35
Tableau. 10	Les valeurs des taux de germination de <i>Vicia faba</i> L. sous effet combiné du stress NaCl/ZnSO <sub>4</sub> .....	36
Tableau. 11	Les valeurs des taux de germination sous l'effet de la salinité.....	40
Tableau. 12	Les valeurs de la vitesse de germination sous effet de stress métallique (Cu) ....	40
Tableau. 13	Les valeurs de la vitesse de germination sous effet de stress métallique (Zn) ..	41
Tableau. 14	Les valeurs de la vitesse de germination sous effet de stress combiné (NaCl/Cu)	41
Tableau. 15	Les valeurs de la vitesse de germination sous effet de stress combiné (NaCl/Zn)	41

## Liste des figures

Figure 1	Origine des métaux lourds dans le sol.....	10
Figure 2	Réponse des plantes à la présence des fortes concentrations des ETMs dans les sols.....	19
Figure 3	Plante de fève <i>Vicia faba</i> L.....	20
Figure 4	Système racinaire de la fève.....	22
Figure 5	Tiges de la fève.....	22
Figure 6	Feuilles de fève.....	23
Figure 7	Fleurs de fève.....	23
Figure 8	Gousses de fève.....	24
Figure9	Graines de fève.....	24
Figure10	Représentation des graines de <i>Vicia faba</i> L. ....	26
Figure11	préparation des graines de <i>Vicia faba</i> L.....	27
Figure12	Dispositif expérimental des différentes concentrations.....	28
Figure13	Préparation des solutions de l'expérimentation.....	29
Figure14	préparation des boîtes de pétrie.....	30
Figure15	Différentes applications de stress.....	30
Figure16	Condition de Grmination.....	30
Figure17	Les étapes de germination in vitro.....	31
Figure18	Critère de germination.....	31
Figure19	Taux de germination de <i>Vicia faba</i> L. sous effet de la salinité.....	33
Figure20	Taux de germination des graines <i>Vicia faba</i> L.sous effet de cuivre.....	34
Figure21	Taux de germination des graines <i>Vicia faba</i> L.sous effet du zinc.....	35
Figure22	Taux de germination des graines <i>Vicia faba</i> L.sous effet combiné du stress (Nacl-ZnSO <sub>4</sub> ).....	37
Figure24	Courbe de cinétique de germination des graines <i>Vicia faba</i> L.sous effet du stress salin.....	37
Figure25	Courbe de cinétique de germination des graines <i>Vicia faba</i> L.sous effet du stress	

métallique cas cuivre.....	38
Figure26 Courbe de cinétique de germination des graines <i>Vicia faba</i> L.sous effet du stress	
Métallique cas Zinc.....	39
Figure27 Courbe de cinétique de germination des graines <i>Vicia faba</i> L.sous effet du stress	
Combiné(Nacl-cu).....	40
Figure28 Courbe de cinétique de germination des graines <i>Vicia faba</i> L.sous effet du stress combiné(Nacl-zn).....	40

## Liste des abréviations

ADN :	acide désoxyribonucléique
Al :	Aluminium
As :	Arsenic
Cu :	cuivre
CuSO <sub>4</sub> :	sulfate de cuivre
Cl :	chllore
ET :	Elément trace
ETM :	Éléments traces métalliques
G :	gramme
Ha :	hectare
H <sub>2</sub> O :	Eau
L :	litre
Meq :	milli équivalent
mM :	milli Mole
mg :	milli gramme
μM :	micro Mole
MS :	Matière sèche
Nacl :	chlorure de sodium
Na :	Sodium
NPK :	Azote, phosphore, potassium
ppm :	partie par million
Se :	Sélénium
TG :	taux de germination
ZnSO <sub>4</sub> :	sulfate de zinc

## Introduction

Physiologiquement, l'impact néfaste de la salinité se traduit par la conjonction d'un effet indirect sur le potentiel hydrique se traduisant par une réduction de la disponibilité de l'eau pour la plante et également par la toxicité et les perturbations de la nutrition minérale induites par l'excès des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  (AlKaraki, 2000).

A cette contrainte écologique pour les sols, s'ajoutent les phénomènes de pollution qui ont pris une importance grandissante dans les domaines sanitaires, économiques et politiques. Le sol a un rôle primordial de stockage et relargage des éléments chimiques, qu'il s'agisse d'éléments majeurs ou d'éléments en traces (ET). Les multiples contaminations que subissent les sols ont rendu nécessaire l'évaluation des risques dus à la présence des ET, dans un objectif de gestion durable des ressources en sol. Cette évaluation ne peut se faire qu'à partir d'une meilleure connaissance de la dynamique des métaux dans les sols, impliquant de comprendre les déterminismes de leur mobilité, de leur biodisponibilité et de leurs toxicités.

Des méthodes analytiques pour quantifier les contaminants et d'autres pour évaluer leurs effets sur les organismes vivants. Il a été établi que l'écotoxicité des polluants est en fonction de leur fraction bio-disponible et non de leur concentration totale. Elle dépend également de phénomènes de synergie ou d'antagonisme entre polluants qui sont particulièrement complexes à modéliser.

L'observation et l'étude des organismes vivants dans les milieux contaminés constituent l'approche la plus pertinente pour évaluer l'impact biologique des polluants potentiellement présents (Fletcher, 1991). Dans ce domaine, les végétaux pourraient représenter d'excellents modèles pour analyser les symptômes de toxicité lors d'expositions à des polluants organiques et inorganiques. En particulier, l'action d'un stress salin ou métallique sur le métabolisme du végétal peut être décelée de manière précoce par son effet sur la germination des graines.

La capacité germinative des semences des plantes est le premier processus physiologique affecté par la présence des métaux lourds dans les sols (Mihoub *et al.* 2005). Le chlorure de sodium présent dans le sol ou dans l'eau d'irrigation affecte la germination des glyco-phes dont la fève (*Vicia faba* L.) de deux manières, il diminue la vitesse de germination et réduit le pouvoir germinatif (West *et al.*, 1982). Cet effet dépend de la nature de l'espèce, de l'intensité du stress salin et de sa durée d'application (Tob *et al.*, 2001).

Cependant, la réduction du pouvoir germinatif est due à l'augmentation de la pression osmotique de la solution du sol, qui ralentit l'imbibition et limite l'absorption de l'eau, nécessaire au déclenchement des processus métaboliques impliqués dans la germination (Levy *et al.*, 1990).

Le stress salin perturbe également les systèmes enzymatiques impliqués dans différentes fonctions physiologiques de la graine en germination, tel que la diminution de l'activité de polyphénol oxydase, amylase et peroxydase (Khemiri *et al.*, 2004). Ces perturbations physiologiques peuvent donc constituer des bio-marqueurs d'exposition qui pourraient être intégrés aux procédures d'évaluation de la qualité d'un sol. De ce fait la germination des graines est proposée parmi les batteries de bio-tests utilisées pour suivre l'écotoxicité de la contamination des sols par des polluants d'origine anthropique (Gong *et al.*, 2001). L'inhibition de ce processus semble toutefois dépendre de la nature et de la concentration de la contamination, de l'espèce végétale, voire même de la variété (Carlson *et al.*, 1991).

Ce travail s'articule autour de l'effet combiné de la salinité et les métaux lourds (Zn et Cu) sur les paramètres germinatifs de la fève variété Aguadulce (*Vicia faba L.*) ; une plante sessile à ces conditions abiotiques considérée comme model en éco-toxicologie.

## **Partie I- Données bibliographiques**

### **Chapitre I. La salinité**

#### **1. Définition**

La salinisation des sols est une accumulation de sels solubles à la surface ou en dessous, à des niveaux nuisibles pour la croissance des plantes et/ou les sols. En dépassant un certain seuil de minéralisation, le sol acquiert le caractère salé et les végétaux subissent une sécheresse physiologique due à une pression osmotique trop forte et à une toxicité en certains éléments. Toutefois, le NaCl est considéré comme le sel le plus important parce que le Na<sup>+</sup> et le Cl<sup>-</sup> sont toxiques pour les plantes quand ils sont accumulés avec des fortes concentrations (Kaewmanee et *al.*, 2013).

#### **1.1. Les sols salés**

Les sols salés ou sols halomorphes appelés actuellement sols sal sodiques représentent un pourcentage important de la surface totale des sols dans le monde (Cherbury, 1991). On parlera en général de sol salé lorsque la concentration en sels des solutions dépasse 0.5 g/ l, cette concentration est le plus souvent mesurée par la conductivité électrique de la solution du sol (Robert, 1996).

Les sols sont constitués par deux unités très différentes :

- Les sali sols, dans lesquels les sels de sodium, de calcium ou de magnésium sont sous la forme soluble de sels simples ou complexes.
- Les sodi sols à complexe sodique dans lesquels les cations, essentiellement le sodium sont sous la forme échangeable, les sels solubles étant très peu abondants (Bouteyre et Loyer, 1992).

## **1.2. Origine de la salinité des sols**

L'origine des sels responsables de cette salinité est diverse :

- Naturel : géologique, marine actuelle ou ancienne, pétrographique due aux ions libérés par l'altération de certaines roches sédimentaire, volcanique, hydrothermale, la dynamique des eaux, éolienne apportée par des embruns (Baba Sidi-Kaci, 2010).
- Anthropique induite par la mise en valeur hydro agricole et autres aménagements (eaux d'irrigation, remontées de nappes phréatiques, engrais, solutions nutritives des serres et des cultures hors sol, effluents urbains, etc.) (Hasan, 1995).

## **1.3. Importance de la salinité**

La salinité est un indicateur dynamique de la nature du régime de change. C'est un paramètre écologique important dans son propre droit, La concentration totale est plus importante car la plupart des cultures répondent à la concentration ionique totale du milieu de croissance (effet osmotique) plutôt qu'à un ion spécifique (Baba Sidi, 2010).

La salinité présente des effets bénéfiques sur la germination et la croissance de quelques espèces à des niveaux très faibles (bien que non quantifiés par les auteurs) de  $\text{NaSO}_4$ , de  $\text{Na Cl}$ , de  $\text{MgSO}_4$  et de  $\text{NaCO}_3$  (Asloum, 1990).

## **1.4. Impacte de la salinité sur la qualité du sol**

En moyenne, la terre perd 10 ha de terres cultivable par minute, dont 03 ha à cause de la salinisation. La source principale de sels dans le sol est les minéraux naturels de la croûte terrestre (Bryssine, 1961). La salinité des sols n'est pas un problème spécifique d'une région ou d'un climat donné ; au contraire, si on observe la répartition des sols salins on constate que l'effet de la contrainte saline affecte toutes les régions du monde (Hosni, 2008).

Les concentrations élevées de  $\text{Na}^+$  dans la solution du sol entraîne une détérioration de la structure du sol, ce qui exacerbe l'effet de la salinité en empêchant le drainage ainsi que la disponibilité de l'eau sera affectée en rendant le sol sec (Bennett et *al.*, 2009). En présence de fortes concentrations de  $\text{Na Cl}$ , la plupart des plantes exclut le  $\text{Na}^+$  et le  $\text{Cl}^-$  par les racines et l'eau sera captée par le sol (Munns, 2005). La salinité réduit les rendements des cultures agricoles dans de nombreuses régions arides et semi-arides du monde où la pluviométrie est insuf-

fisante pour un lessivage des sels dans la zone racinaire (Rengasamy, 2006). Et par conséquent a des effets négatifs sur la sécurité alimentaire.

## **2.1. Salinité et plante**

### **2.1. Définition de stress**

Le stress est un ensemble de conditions qui provoquent des changements de processus physiologiques résultant éventuellement en dégâts, dommages, blessures, inhibition de croissance ou de développement, il est défini aussi comme le dysfonctionnement (rupture d'un équilibre fonctionnel) produit dans un organisme ou dans un système vivant d'après (Dutuit et *al.*, 1994).

### **2.2. Formes de stress**

#### **2.2.1. Biotique**

Il est imposé par d'autres organismes (insectes, herbivores...). Afin d'y faire face, la plante met en place un système de défense qui fait intervenir une chaîne de réactions. Les protéines végétales défensives produites font office de rempart contre les agents nuisibles (Shilpi et Narendra, 2005).

#### **2.2.2. Abiotique**

Il est provoqué par un défaut ou excès de l'environnement physico-chimique comme la sécheresse, les températures, la salinité, la présence d'un minéral inadéquat dans le sol, cas des métaux lourds et ce sont les stress les plus fréquents et les plus étudiés. Ils peuvent imposer aux plantes des modifications métaboliques, physiologiques et phénologiques. Le stress peut déclencher plusieurs réponses à plusieurs niveaux de la plante (Shilpi et Narendra, 2005).

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

- **Stress hydrique**

Une forte concentration saline dans le sol est tout d'abord perçue par la plante comme une forte diminution de la disponibilité en eau. Cela nécessite un ajustement osmotique adapté, afin que le potentiel hydrique cellulaire demeure inférieur à celui du milieu extracellulaire et à celui du sol. Ce phénomène assure d'une part, la poursuite de l'absorption de l'eau du sol, et d'autre part, la rétention de l'eau intracellulaire et le maintien de la turgescence.

Lorsque l'ajustement osmotique n'est pas suffisant, l'eau a tendance à quitter les cellules, ce qui provoque un déficit hydrique et la perte de la turgescence.

- **Stress ionique**

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

- **Stress nutritionnel**

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

- **Stress salin**

Le stress salin est un excès d'ions en particulier mais pas exclusivement aux ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  (Hopkins, 2003). Le stress salin est dû à la présence de quantités importantes de sels potentiels hydriques. Il réduit fortement la disponibilité de l'eau pour les plantes, on parle alors de milieu "physiologiquement sec" (Tremblin, 2000).

La quantité de sels dans le sol que les plantes peuvent supporter, sans grand dommage pour leur culture, varie avec les familles, les genres et les espèces, mais aussi les variétés considérées (Levigneron et *al.*, 1995).

### **2.3. Effet du stress salin sur la plante**

L'eau est une ressource indispensable pour les végétaux (Calu, 2006). Sa présence est une condition incontournable pour que toute plante puisse se développer et assurer ses fonctions physiologiques vitales. Cependant, suivant le milieu naturel, cette ressource n'est pas toujours facile d'accès dans le sol. Ainsi les plantes présentes sur des surfaces sèches et salées vont se retrouver exposées à un stress hydrique important, contre lequel elles devront lutter pour survivre (Calu, 2006).

Dans le cas d'un stress salin, une double problématique se pose à l'organisme végétal :

- d'un côté, la présence de sel, en abaissant le potentiel hydrique du sol, menace l'approvisionnement en eau de la plante.

- de l'autre, l'absorption de sel dans les tissus menace le bon fonctionnement physiologique des cellules (Girard *et al.*, 2005).

Face à ce danger, toutes les plantes ne sont pas égales. Certaines, nommées glycophytes, ne sont pas capables de supporter la présence de sel. Les halophytes, au contraire, développent des réponses physiologiques pour assurer leur approvisionnement en eau tout en préservant leur métabolisme (Calu, 2006).

### **2.3.1. Effets de la salinité sur les stades physiologiques de la plante**

Le milieu salin provoque de nombreux effets négatifs sur le comportement physiologique de la plante, ce qui est dû au faible potentiel osmotique de la solution du sol (Stress osmotique) et aux effets des ions spécifiques (stress salin), à un déséquilibre nutritionnel ou une combinaison de ces facteurs (Kausar *et al.*, 2014).

#### **a. Germination**

La germination des graines est une étape importante et vulnérable pour le cycle de développement des Angiospermes terrestres, et de déterminer l'établissement du semi et la croissance des plantes. La réponse des graines à la salinité est un indicateur de la tolérance de la plante, durant les étapes postérieures de développement (Flower, 2004).

La germination est régulée par les caractéristiques génotypiques, les conditions environnementales et en particulier la disponibilité de l'eau et du sel dans le sol (Gutterman, 1993).

L'effet du stress salin sur la germination peut être attribué soit à un effet osmotique et/ou une toxicité des ions spécifiques à l'émergence de la racicule ou le développement des semis (Abdelkader *et al.*, 2015).

Le stress salin peut affecter la germination de deux façons :

- En diminuant la vitesse d'entrée et la quantité d'eau absorbée par les graines.
- En augmentant la pénétration d'ions qui peuvent s'accumuler dans les graines à des doses qui deviennent toxiques.

## **b. Croissance et le développement de la plantule**

L'exposition des plantes au stress salin conduit au nanisme. La salinité affecte fortement la croissance des racines et la morphologie, les différentes réponses aux niveaux physiologiques, biochimiques et moléculaires sont détectées, même dans les différentes zones racinaires (Sharp *et al.*, 2004). Ces changements dans le système racinaire vont causer un changement dans le bilan hydrique, ionique et la production de signaux (hormones) qui communiquent des informations à la tige (Munns *et al.*, 2000). Les feuilles deviennent sclérosées avant même d'avoir fini leur croissance et l'organisme tout entier risque de dépérir assez vite (Calu, 2006).

### **2.3.2. Tolérance des plantes à la salinité**

La caractérisation physiologique, de la tolérance des végétaux à la salinité résulte de processus qui permettent au végétal, d'absorber l'eau et les sels minéraux à partir de substrats à faibles potentiels hydriques. Mais aussi, de vivre en acceptant la présence importante de sodium dans ses tissus. Les halophytes qui accumulent le plus de sodium, se signalent ainsi par une forte capacité d'élaboration de composés organiques (Guerrier, 1984), ces deux facteurs permettant le maintien d'une haute pression osmotique interne, qui favorise les échanges d'eau entre les compartiments externe et cellulaire (Bochoukh, 2010).

## **Chapitre II. Généralités sur les métaux lourds**

Le problème des sols contaminés est aujourd'hui très préoccupant pour les pays émergent. Les métaux lourds tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le cadmium (Cd), le plomb (Pb) ne peuvent pas être dégradés et donc persistent dans l'environnement. D'origine naturelle (Baize, 1997) ou anthropique (Bourelier et bertelin, 1998) sont continuellement rajoutés dans les sols par diverses activités.

A des concentrations normales, certains sont utiles voire indispensables aux végétaux et animaux mais ils deviennent tous toxiques à partir d'un certain seuil (Kabata-Pendias, 2001).

### **1. Définition des métaux lourds**

Le thème métaux lourds désigne l'expression « *éléments traces métalliques* ». Les ETMs sont réputés toxiques alors que certains sont des oligo-éléments (Cu, Zn, Fe, Co...), d'autres sont des métalloïdes (Se, As) ou qu'ils ne sont pas lourds (Be, Al) (Anne et Isabelle, 2005). Pour les chimistes, ces métaux sont de numéro atomique élevé, de densité supérieure à  $5\text{g/cm}^3$ . Pour les biologistes, on en distingue deux types en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques.

### **2. Les métaux essentiels**

On distingue en général les macroéléments dites majeur de fertilisation (NPK) et les oligoéléments appelés aussi éléments traces (tableau 1). Les oligoéléments sont les éléments indispensables à la vie, mais qui se trouvent présents en proportions très faibles dans les tissus biologiques (Loué, 1993). Ceux qui sont actuellement reconnus comme essentiels chez les plantes supérieures sont : Fe, Mn, Zn, Cu, B, Mo, nécessaire à la nutrition des plantes. Ils interviennent également dans les réactions métaboliques ou biochimiques. Leur absence peut entrainer des carences et l'excès peut devenir nocif.

**Tableau. 1** : classification des éléments chimiques nécessaires aux plantes.

<b>Macro- éléments</b>	<b>Oligo-éléments</b>
Carbone	Fer
Hydrogène	Manganèse
Azote	Zinc
Soufre	Cuivre
Phosphore	Bore
Potassium	Molybdène
Calcium	Sodium
Magnésium	Chlore/Silicium Cobalt

### **3. Les métaux toxiques**

D'autres métaux comme le cadmium, le plomb, le mercure.... ne sont pas essentielles et ne produisent que des effets toxiques pour les organismes vivants et un caractère polluants pour l'environnement (Huynh, 2009).

La toxicité des métaux est due essentiellement à :

- Non biodégradable ;
- Toxicité à faible concentration ;
- Leur tendance à s'accumuler dans les organismes vivants et de se concentrer le long des chaînes trophiques.

#### 4. Origine de la contamination des sols par les métaux lourds

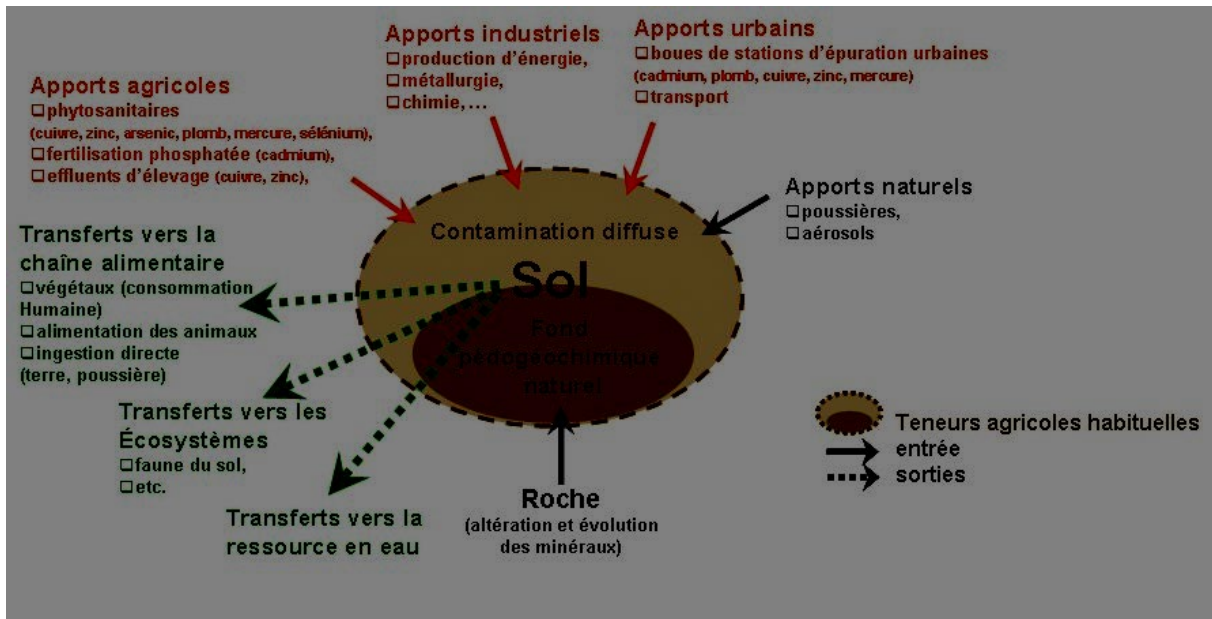


Figure 1 : Origine des métaux lourds dans le sol (Robert et Juste, 1999)

##### 4.1. Origine naturelle

Parmi les importantes sources naturelles des métaux lourds, citons l'activité volcanique, l'altération des continents et les incendies de forêts. La contribution des volcans peut se présenter sous forme d'émissions volumineuse due à une activité explosive, ou d'émission continue de faible volume, résultant notamment de l'activité géochimique et du dégazage du magma (Afnor, 1988).

##### 4.2. Origine anthropique

L'homme modifié très sensiblement la composition des sols en éléments traces (Bourrelier et Berthelin, 1998), que ce soit à travers l'agriculture ou par l'ensemble des activités qu'il a développé. Ceci inclut l'extraction des éléments de certaines roches du sous-sol où ils se sont suffisamment concentrés pour former des minerais exploitables, jusqu'à leur dispersion à la surface de la terre au travers d'usages très variés.

Les principaux types de pollutions responsables de l'augmentation des flux de métaux, sont :

- La pollution atmosphérique : sont représentées par les apports diffus aériens d'origine lointaine. Il s'agit des poussières et aérosols provenant des chauffages, des activités industrielles, des moteurs automobiles se déposent sur les sols et véhiculés par les pluies et les brouillards.
- La pollution industrielle : résultant de l'activité humaine, industries agroalimentaire, l'industrie chimique, métallurgie (Godin et *al.*, 1985), radioactivité....
- La pollution liée à l'agriculture : les apports en métaux lourds sont d'origine, les engrais, les compostes, les amendements calcaires, les fumiers, les lisiers (Robert et juste, 1999).

### **4.3. Pollution par les métaux lourds cas du (Cuivre et Zinc)**

#### **4.3.1. Le Cuivre**

Le cuivre est présent dans l'environnement de manière ubiquitaire, sa concentration dans l'écorce terrestre est estimée à environ 70 mg/kg (Baize, 1997). Le cuivre, est un élément du groupe IB du tableau périodique, de masse atomique 63.546 g/mol.

Le cuivre est considéré comme un oligo-élément, indispensable à la vie, présent en trace dans les tissus biologiques (Loué, 1993). En 1930, le cuivre a été reconnu élément trace pour les plantes (Alloway, 1995).

#### **4.3.2. Le Cuivre dans le sol**

Le cuivre total d'un sol varie de 3 à 100ppm, mais cette valeur ne renseigne guère sur sa disponibilité. Dans le sol la forme la plus courante est  $\text{Cu}^{++}$ , adsorbé et dans les solutions du sol sous forme ionique ou de composés variés ( $\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$ ,  $\text{CuCO}_3$ ,  $\text{CuFeS}_2$ ,  $\text{CuO}_2$ ....). L'adsorption du Cu est forte sur les complexes argilo-humique (Besnard et *al.*, 2001), particulièrement par la matière organique, et sa concentration demeure faible dans les solutions du sol donc peu mobile (Nowack et *al.*, 2010).

Lorsque la capacité d'adsorption du Cu est faible et le milieu acide, le cuivre peut être plus abondant dans le sol (Sauvé et *al.*, 1997). L'absorption de Cu est surtout liée au niveau du sol en cuivre assimilable (Mengel et Kirkby, 1982).

### 4.3.3. Déficience en cuivre dans les sols

Les principaux facteurs susceptibles de favoriser l'apparition de déficience en Cu dans le sol sont :

- ❖ Les faibles réserves du sol en cuivre total ;
- ❖ La mauvaise disponibilité de Cu du sol pour les plantes ;
- ❖ Le pH du sol ;
- ❖ Les interactions avec d'autres éléments fertilisants.

### 4.3.4. Rôle du Cuivre dans la plante

Dès 1930, le cuivre est reconnu comme élément essentiel pour les végétaux (Al-louway, 1995). Dans les feuilles, près de 70% du cuivre est localisé dans les chloroplastes sous forme de protéines complexes. Il joue un rôle important dans divers processus métaboliques, en participant à la photosynthèse et la constitution de différentes protéines (Marchner, 1995).

Cependant, comme tous les éléments majeurs et oligo-éléments, une déficience et un excès de cuivre affecte une multitude de processus physiologiques.

#### - Déficience en cuivre

Les besoins en cuivre des cultures souvent sont dans une fourchette de 25 à 150 g/ha. Pour de nombreuses plantes, la déficience en Cu est caractérisée par des teneurs de la matière sèche inférieure à 4 ppm (Katyal et Randhawa, 1986).

- Des carences dans la partie végétative, les symptômes sont : croissance ralentie, déformation et blanchiment des jeunes feuilles, nécrose de l'apex.
- Des déséquilibres métaboliques (Loué, 1993) citons le métabolisme des hydrates de carbone, de l'azote et la paroi cellulaire.

L'intervalle correspondant à la nutrition normale se situe entre 5 et 20 ppm pour la plupart des plantes (Kabata-Pendias et Pendias, 1992).

#### - Excès en cuivre

L'excès commencerait pour des teneurs supérieures à 20 ppm (Balsberg Pahlsson, 1989). Les symptômes de toxicité qui apparaissent, inhibant la croissance des racines avant celle des parties aériennes provoquant le nanisme (Marchner, 1995). Cette phyto-toxicité peut se traduire par une déficience en fer et une chlorose (Loué, 1993) en conséquence du

dérèglement de la peroxydation des lipides et destruction membranaire. L'excès du cuivre est dû à l'utilisation des fongicides, des fumiers, des lisiers ; des déchets urbaine et boues d'épuration riche en cuivre.

#### **4.3.5. Absorption et distribution du Cuivre dans la plante**

Selon (Graham et Loneragan, 1981), Les rythmes d'absorption de cuivre sont parmi les plus bas de ceux de tous les éléments essentiels. Le Cu est absorbé par les plantes en très petite quantités, les teneurs de la matière sèche étant généralement comprise entre 2et 20ppm (Graham, 1981).

Le cuivre est presque totalement complexé dans l'environnement racinaire (Brun et *al.*, 2001) et peut présenter une mauvaise migration vers les organes aériens. Celle-ci est contrôlée par le métabolisme de l'azote (Loneragan et *al.*, 1981). Le cuivre se présente dans la sève du xylème et du phloème sous forme de composés organique azotés tel que les acides aminés (Stevenson et Fitch, 1981). Il a été montré, dans les exsudats du xylème de divers plantes, que le cuivre était présent sous forme anionique, probablement chélate par un anion d'acide aminé.

La mobilité du cuivre dans la plante est restreinte, il peut se déplacer, en particulier des feuilles âgées vers les plus jeunes.la perte de Cu des feuilles âgées se fait parallèlement à leur sénescence et à leur perte de N. Elle semble dépendre de l'hydrolyse des protéines auxquelles le Cu est lié. Le Cu ne se déplace à partir des feuilles que lorsque celles-ci perdent leurs composés organiques azotés (Loneragan et *al.*, 1980).

Selon (Loneragan, 1975) dans des plantules de blé correctement alimentées en Cu, le transit de cuivre vers les graines se fait normalement alors que, dans des plantes déficientes, Cu est moins mobile. On admet que le transport de Cu à partir des graines se fait sous forme chélate (Tiffin, 1972).

#### **4.4. Le Zinc**

La teneur moyenne de Zinc de l'écorce terrestre est d'environ 70 ppm. Le Zinc est le 23<sup>ème</sup> élément le plus abondant sur Terre. De masse atomique 65,38 g/mol, est un métal de transition. Il est le deuxième métal lourd le plus présent dans les organismes après le fer, et le seul qui interagisse avec les 6 classes d'enzymes (oxydoréductases, transférases, hydrolases, lysasses, isomérases, ligases) (Broadley et *al.*, 2007).

La teneur en Zinc du corps humain est de 33 ppm. Dans les plantes, cette teneur varie selon les espèces et les tissus ; la plus forte teneur se rencontre dans les fleurs (Krämer et

Clemens, 2006). La limite basse est autour de 15-20 ppm (Marschner, 1995). La concentration en zinc dans les cellules est globalement de 0,1 – 0,5 mM (Eide, 2006).

#### **4.4.1. Le Zinc dans le sol**

La teneur en Zn du sol est généralement comprise entre 17 et 125 ppm (Peer et *al.*, 2005), avec une teneur moyenne de 64 ppm (Emsley, 2003). Le Zinc est assez uniformément distribué dans les roches magmatiques (40 à 120mg/kg).sa concentration est un peu élevée dans les sédiments argileux (80 à 120mg/kg) et les schistes alors qu'elle est plus faible dans les roches-mères sableuses. La toxicité du Zn est très liée au pH du sol (Chaney, 1993). Où l'intensité de l'adsorption s'élève avec le PH et la mobilité du Zn est réduite à PH supérieur à 7. La solubilité du Zinc du sol est maximale à PH de 4 et faible dans des sols alcalins.

Les rejets anthropiques liés aux activités industrielles, sidérurgiques et minières, aux transports et aux pratiques culturelles conduisent à de nombreuses pollutions des sols, des eaux et de l'air par le Zinc, avec des conséquences à grande échelle, en particulier dans le cas de la pollution atmosphérique (Altaf, 2007).

#### **4.4.2. Déficience des sols en Zinc**

Les facteurs qui favorisent l'apparition des carences en Zn dans un sol sont :

- ❖ La pauvreté des sols en Zinc,
- ❖ Des PH élevés ou des sols fortement chaulés,
- ❖ Une trop basse température du sol,
- ❖ La pauvreté en matière organique,
- ❖ Une grande richesse des sols en phosphore.

#### **4.4.3. Le rôle du Zinc dans la plante**

Le zinc est un élément essentiel pour les plantes (Sommer et Lipman, 1926) comme pour les animaux, dont l'homme (Jeejeebhoy, 2007). Environ 10% des protéines humaines sont potentiellement capables de lier le  $Zn^{2+}$  (Andreini et *al.*, 2006), il est le cofacteur le plus fréquemment rencontré dans les métalloprotéines (Hänsch et Mendel, 2009). Le "succès" du  $Zn^{2+}$  dans ses relations avec les biomolécules résulte de ses propriétés chimiques particulières.

- D'abord, le Zn est un acide de Lewis fort, il a donc de fortes affinités pour les bases faibles (e.g. ligands sulphides), comme pour les bases fortes (ligands amino, carboxylate, hydroxyl, etc).
- Ensuite le zinc intervient dans les systèmes biologiques sous une unique forme d'oxydation :  $Zn^{2+}$ , ce qui écarte tout risque de générer des radicaux libres.
- La géométrie induite par l'ion  $Zn^{2+}$  est plus souple que pour la plupart des autres métaux de transition ; il est le seul à permettre une structure tétraédrique (par exemple dans les « doigts à zinc »).
- Enfin l'échange de ligand du  $Zn^{2+}$  est plus rapide que celle des autres métaux présentant des propriétés proches (Ni, Cu, Co), même si elle reste très inférieure à celle du  $Ca^{2+}$  qui est l'ion de signalisation par excellence (Frausto da Silva et Williams, 2001).

Considérant ses liens privilégiés avec l'ADN, certains auteurs considèrent que le Zn peut jouer le rôle de signal lent ou d'hormone (Frausto da Silva et Williams, 2001), Il a un rôle spécifique dans le métabolisme de l'auxine, hormone responsable de l'élongation cellulaire (synthèse de tryptophane). Le zinc rentre dans la composition d'un très grand nombre d'enzymes (anhydrase carbonique, déshydrogénases), plus de 300, au sein desquelles, il remplit trois types de fonctions : catalytique, co-catalytique ou structurelle.

De même, le Zinc contrôle la synthèse de l'acide indolacétique, régulateur de croissance et augmente la résistance des plantes aux maladies fongiques (Tremel-Schaub et Feix, 2005).

#### - **Déficiences en Zinc**

- Des modifications morphologiques des feuilles (taille réduite - déformation).
- Un raccourcissement de l'entre-nœud conduisant à un raccourcissement de la tige, chez les dicotylédones.

#### - **Phytotoxicité en Zinc**

- Une réduction de la croissance des racines et des feuilles, suivies d'une chlorose ferrique des jeunes feuilles pouvant être induit par une carence en fer ou magnésium et en phosphore (Adriano *et al.*, 1971).

La teneur moyenne présente dans les végétaux compris entre 15 à 70  $\mu\text{g/g.MS}$ . Pour les plantes cultivées sur des sols contaminés peut dépasser 100  $\mu\text{g/g. MS}$ . Les teneurs considérées comme toxiques sont estimées entre 100 et 400  $\mu\text{g/g. MS}$  (Kabata-Pendias et Pendias, 1992).

#### 4.4.4. Absorption et distribution du Zinc dans la plante

D'anciens travaux indiquaient que le Zinc est assimilé de façon majoritaire sous la forme  $Zn^{++}$ , qui est la forme également sous laquelle il est transporté dans la plante (Kabata-Pendias et Pendias, 1992). Le Zinc est plus mobile au sein de la plante que le cuivre. Cependant les racines contiennent de plus grande quantité que les parties aériennes où il se concentre dans les chloroplastes, les vacuoles, et les membranes cellulaires. Lors de la translocation, le Zinc est chélate à des acides organiques (Tremel-Schaub et Feix, 2005). En particulier lorsque les apports sont importants.

Il existe donc de nombreux transporteurs cellulaires du zinc qui participent à la tolérance et à son accumulation (Van der Zaal et *al.*, 1999), dans différentes familles : notamment les ABC transporteurs, ZIP, NRAMP, YSL, CDF et P1B-ATPase (Colangelo et Guerinot, 2006).

En cas d'excès, le zinc, comme les autres ions métalliques, induit un stress de type oxydant (Chaoui et *al.*, 1997) et donc l'activation des enzymes du cycle Asada-Foyer-Halliwell liées notamment à l'acrobate et au glutathion et qui régulent le statut redox de la cellule (Halliwell, 2006).

La mobilité du Zinc dans les plantes n'est pas grande. Le Zn tend à s'accumuler dans les racines, principalement en cas de fourniture importante de Zn. la mobilité du Zn vers les tissus les plus jeunes et nettement plus faible encore dans les plantes déficientes en Zinc (Loneragan, 1975).

Une forte teneur de Zn dans le sol s'accompagne parfois d'une accumulation de cet ion dans la plante (Deng et *al.*, 2006), mais ce n'est pas toujours le cas (Wang et *al.*, 2007). L'excès de Zn dans le sol conduit à une réduction de la synthèse de chlorophylle, une dégradation des chloroplastes et à des interférences qui limitent l'absorption d'éléments tels que P, Mg, Cu, Fe et Mn (Broadley et *al.*, 2007).

#### 4.4.5. Déficience, tolérance et toxicité du Zinc chez les végétaux

Les travaux de (Boawm et Rasmussen, 1971) ont montré que les graminées (le maïs, orge, blé...) ont constitué le groupe le plus sensible avec plus de 40% de baisse des rendements et des teneurs associées de 450 à 550 ppm de Zinc dans les plantes.

Un groupe moyennement sensible comportait la luzerne, le pois, la laitue, l'épinard, la tomate...

Les cultures les plus tolérantes : haricot, trèfle, pomme de terre...

Certaines races d'*Agrostis tenuis* tolérantes à Zn sur sol contaminés avec des teneurs dans leurs racines plus élevées que les plantes non tolérantes.

Il existe des espèces présentant des teneurs Zn très élevées dans les parties foliacées. Exemple, Carles et al., (1969) ont révélé des teneurs de 1000 ppm voire même 4000 ppm dans les feuilles d'une espèce tolérante à Zn (*Armeria belleri*) au voisinage d'une exposition minière.

Les carences en zinc entraînent :

- Des modifications morphologiques des feuilles (taille réduite - déformation).
- Un raccourcissement de l'entre-nœud conduisant à un raccourcissement de la tige, chez les dicotylédones.

La toxicité du Zinc se traduit par :

- Une réduction de la croissance des racines et des feuilles,
- Suivies d'une chlorose ferrique des jeunes feuilles pouvant être induit par une carence en fer ou magnésium et en phosphore (Adriano et al., 1971).

Les teneurs considérées comme toxiques sont estimées entre 100 et 400 µg/g. MS (Kabata-Pendias et Pendias, 1992). La teneur moyenne présente dans les végétaux compris entre 15 à 70 µg/g. MS. Pour les plantes cultivées sur des sols contaminés peut dépasser 100 µg/g. MS.

#### **4.4.6. Modes de pénétration des ETMS dans la plante**

##### **- Pénétration racinaire**

##### **❖ Entrée dans l'espace racinaire par l'épiderme**

Les mouvements des ions ne se limitent pas à la surface racinaire. Avant d'être absorbés par les cellules des racines, les ions circulent librement dans les espaces intracellulaires du cortex ou immobilisés par les charges négatives des parois cellulaires. Les ETMS ont tendance à s'accumuler dans les espaces libres, étant fortement liés aux groupements carboxyliques des composés pecto-cellulosiques des parois suivant l'ordre ci-après : Zn < Cd < Cu < Pb (Morel, 1985). Les ETMS sont transportés radialement dans l'espace libre (voie Apo plasmique) jusqu'à l'endoderme limités par la bande de Caspary, barrière limitant leur entrée dans la stèle. Les cellules de cortex contiennent plus d'ions que celle de la stèle (Hopkins, 2003).

### ❖ **Entrée dans le cytoplasme**

La membrane plasmique est l'ultime barrière entre la solution du sol et la cellule. Le Cd, Cu, Zn traversent cette membrane et pénètrent dans le cytoplasme par voie active (diffusion) et la voie passive (transport) requérant l'énergie. A faible concentration d'ETM dans la solution du sol (0.005M), les ETMs sont absorbés par la voie active impliquant les H<sup>+</sup>ATPase localisées dans le plasmalemma. A des concentrations supérieures à 0.1M, la diffusion est le processus majeur de l'absorption. Les cations bivalents essentiels comme le Ca, Mn, Zn sont des compétiteurs vie à vie des métaux toxiques (Bourrelier et Berthelin, 1998).

#### - **Pénétration foliaire**

Les ETMs peuvent être absorbés directement par les parties aériennes des plantes à partir des dépôts atmosphériques (Bargagli *et al.*, 1997). Les ETMs essentiels et/ou non essentiels emprunteraient les mêmes voies que les autres éléments nutritifs (N, P) par les ectodermes de cuticule (Bourrelier et Berthelin, 1998).

#### **4.4.7. Tolérances des plantes aux fortes concentrations en ETMs dans le sol**

La tolérance aux ETMs est l'aptitude qu'ont certaines plantes à se développer dans un environnement dont la teneur en ETMs est toxique pour d'autres plantes (Macnair, 1990). Cette adaptation des métallophytes à des concentrations élevées en ETMs est couplée au développement des mécanismes de tolérances à ces conditions adverses où les autres espèces ne survivent pas. En général cette tolérance est spécifique à un ETM, mais la multi tolérance a été fréquemment observée (Macnair, 1987).

Selon Baker *et al.* (1998), la tolérance s'exprime par l'exclusion et la détoxification ou la tolérance biochimique.

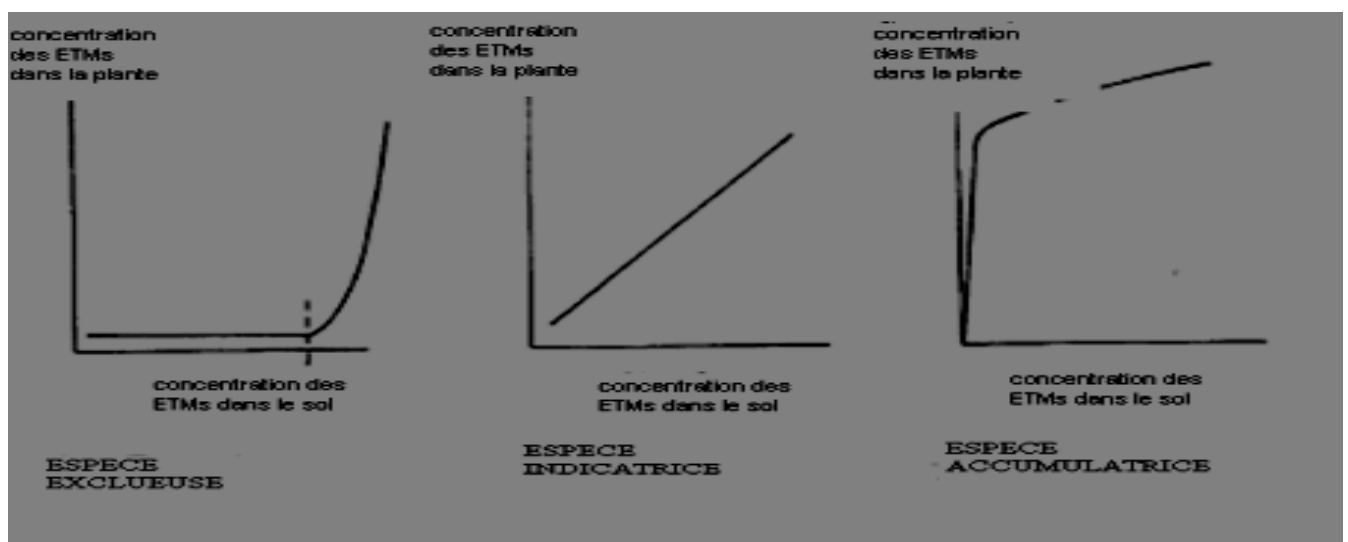
- **L'exclusion** : Est la restriction du prélèvement racinaire ou la limitation du transport vers les parties aériennes. Elle repose sur différents mécanismes comme : l'immobilisation des éléments dans la paroi cellulaire, la complexation par les exsudats racinaires, le pH et la membrane plasmique.
- **La détoxification** : Est une tolérance interne qui protège la plante contre l'altération des cellules. Les métaux sont détoxiqués dans le cytoplasme par chélation avec les acides organiques ou des protéines et compartimentés avec passage dans la vacuole.

Les plantes peuvent produire une grande variété des composés complexant en présence des concentrations excessives des ETMs (aa, acide malique, citrique, phytochelatine.). Les phytochelatines seraient essentiels dans la réduction de la toxicité des ETMs dans le cytoplasme. Il s'agit du métallo thionines, cadystines... Ces substances sont synthétisées à partir du glutathion par une enzyme à-glutamyl cystéine dipeptide transpeptidase.

Le prélèvement des ETMs peut différer selon les différents génotypes des plantes, en relation avec la concentration du métal dans le sol.

Trois grandes stratégies existent :

- **Plantes exclueuses** : prélèvent très peu d'ETMs même quand elles sont exposées à des concentrations élevées dans le sol. Ces plantes possèdent des barrières empêchant le prélèvement d'un excès d'ETMs rend les barrières perméables et génère une action toxique.
- **Plantes accumulatrices** : prélèvent des concentrations élevées d'ETMs du sol. Ces plantes utilisent des mécanismes de détoxications dans leurs tissus, qui leur permettent d'accumuler les métaux.
- **Plantes indicatrices** : ont des concentrations en ETMs dans leurs tissus qui reflètent la concentration du métal dans les sols et qui augmentent de façon linéaire avec elle.



**Figure 2** : Réponse des plantes à la présence des fortes concentrations des ETMs dans les sols (Baker et Walker, 1989).

#### **4.4.8. Mécanismes physiologiques et moléculaires de la tolérance aux métaux**

- La chélation d'ions métalliques par des ligands spécifiques de forte affinité et séquestration dans la vacuole ;
- La biotransformation de l'ion métallique en une forme moins toxique ;
- Les mécanismes de réparations cellulaires.

## Chapitre III. Présentation de la plante

### 1. La fève (*Vicia faba* L.)

La fève, *Vicia faba* L. est l'un des légumineuses les plus anciennement cultivés dans le monde (Tanno et Willcox, 2006). Cette légumineuse constitue une source de protéines importante pour l'alimentation de l'homme et celle des animaux d'une part (Thalji et Shalalkeh, 2006) et permet une économie de la fertilisation azotée en raison de ses propriétés fixatrices d'azote atmosphérique d'autre part. Ces atouts la rendent très appréciée par les agriculteurs. La fève peut constituer une tête d'assolement très intéressante dans un programme de rotation.



**Figure 3:** plants de fève *Vicia faba* L.

### 2. Origine et historique de la fève

La fève a été domestiquée très tôt dans le monde. Bien que son origine ne soit pas encore claire, il a été longtemps pensé qu'elle était originaire de la méditerranée ou de l'Asie de l'Ouest. D'autres auteurs comme (Mikic, 2011), la considèrent originaire d'Asie centrale.

Selon Cubero, (2011), le centre d'origine de *Vicia faba* L. serait le Proche-Orient, cette plante aurait été disséminée d'abord vers l'Europe centrale et la Russie puis vers l'Est de la méditerranée et à partir de l'Egypte et les cotes Arabes vers l'Abyssinie puis de la Mésopotamie vers l'Inde et la Chine. Au cours du 16ème siècle, la culture de la fève a été introduite en Amérique par les Espagnoles et vers la fin du 20ème siècle, elle a réussi à atteindre l'Australie.

Il semble que "faba" vienne de l'indo-européen, "bhabha" signifiant "fruit sec", qui a donné "haba" en espagnol, "fava" en italien et "fève" en français.

### 3. Taxonomie et caractéristiques botanique

#### 3.3. Classification

D'après Dajoz, (2000), la fève est classée comme suit :

• Règne	Plantae
• Sous règne	Viridiaeplantae
• Embranchement	Spermaphytes
• Sous embranchement	Angiosperme
• Classe	dicotylédones
• Ordre	Rosales
• Famille	Fabacée
• Sous famille	papilionacées
• Genre	<i>Vicia</i>
• Espèce	<i>faba</i>
• Nom binomial	<i>Vicia faba</i> L.

D'après Nuessly et *al.* (2004), la fève est subdivisée selon la taille des graines en 3 sous espèces qui sont :

- *Vicia faba* var. minor, ou féveroles dont les graines sont respectivement de petite taille et de taille moyenne, poids de 1000 graine est inférieur à 800 grammes. Elles sont principalement cultivées pour l'alimentation animale ou comme engrais vert.
- *Vicia faba* var. equina, ou la févette. La graine est de taille moyenne et le poids de 1000 graine est inférieur à 1500 grammes.
- *Vicia faba* var. major, ou fève proprement dite se distingue par la taille importante de ses graines. Le poids de 1000 graines varie entre 1000 et 1500 grammes.

En Algérie, les variétés les plus fréquentes sont : Super Aguadulce, Giza402 et *Reina blanca* (Boussad et Doumandji, 2004).

### 3.4. Description botanique

La fève est une plante annuelle, herbacée érigée et vigoureuse. Diploïde ( $2n = 12$  chromosomes) et partiellement allogame (Wang et al., 2012). Elle est formée d'un appareil végétatif et d'un appareil reproducteur.

#### ▪ Racines

Selon Duc (1997), le système racinaire de *Vicia faba* L. est formé par une racine principale pivotante parfois et superficielle le plus souvent et des racines secondaires portant des nodosités contenant des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote atmosphérique dans le sol sous forme d'ion utilisable par les plantes (Foltet, 2010) appartenant à l'espèce *Rhizobium léguminosarum*.



**Figure 4 :** Système racinaire de la fève

D'après Chaux et Foury (1994), le système racinaire de la fève peut s'enfoncer jusqu'à 80 cm de profondeur, les nodosités sont abondantes dans les 30 premiers centimètres.

#### ▪ Tiges

La tige est simple, dressée, creuse, de section quadrangulaire, sa hauteur est généralement comprise entre 0,80 à 1,20 m (Chaux et Foury, 1994). La tige est pourvue d'un ou plusieurs rameaux à la base et présente un type de croissance indéterminé (Belay, 2006).



**Figure 5 :** Tiges de la fève

- **Feuilles**



**Figure 6 :** Feuilles de la fève

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

- **Fleurs**



**Figure 7 :** Fleurs de fève.

Les fleurs sont de type papilionacé, hermaphrodites de 2 à 3 cm, de couleur blanche avec une tache noire sur les ailes (pétales latéraux des papilionacées). Les plantes à fleur blanche sans tache noire ne comportent pas de tanin dans la graine (Boyeldieu, 1991). L'inflorescence est en grappe axillaire de 1 à 6 fleurs sont constituées d'un calice à 5 sépales, d'une Corolle zygomorphe 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 suivant (Brink et Belay, 2006). Girard, (1990), rapporte qu'il n'y a pas d'inflorescence terminale ce qui fait que la floraison est en principe indéfinie.

#### ▪ Fruits



**Figure 8 :** Gousses de fève

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

#### ▪ Graines



**Figure 9 :** Graines de la fève.

Les graines sont charnues, de couleur vert tendre à l'état immature, elles développent à maturité complète, un tégument épais et coriace de couleur brun rouge à blanc verdâtre et prend une forme aplatie à contour presque circulaire réniforme. Les graines possèdent un hile clair ou de couleur noire parfois entouré de taches de couleur marron (Duc, 1997). 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'épi cotyle qui émerge du sol.

### 3.5. Importance agro-économique et nutritionnelle de la fève

Comme toutes les légumineuses, la fève en association avec les rhizobiums peut fixer jusqu'à 120 kg d'azote / ha (Workalemah, 2009). Ainsi, elle contribue au maintien de la fertilité des sols et permet d'économiser au moins une partie des frais d'intrants azotés coûteux et polluants pour l'environnement.

Cette plante constitue également une excellente source de fibres solubles et insolubles et de protéines, elle est consommée soit comme des légumes verts ou en tant que des semences sèches (Bissar, soupe, etc.). Après la récolte, la paille est également utilisée pour nourrir le bétail. Les graines mûres de la fève constituent une bonne source de protéines, amidon, cellulose, vitamines (C et B9), des minéraux (en particulier le potassium, le phosphore, le calcium, le magnésium, le cuivre, le fer et le zinc) (Ibrahim *et al.*, 2007).

**Tableau 02** : Composition chimique moyenne pour 100 g de fève (**Fachmann et Kraut, 2006**)

Kcal	64
Eau	82g
Protéines	5,4g
Glucides	10g
Lipides	0,3g
Fibres	6,5g

Vitamine B1	0,3mg
Vitamine B2	0,2mg
Vitamine C	28mg

<b>K</b>	<b>210mg</b>
Mg	18mg
P	105mg
Ca	24mg
Fe	1mg

Bien que la fève soit moins consommée dans les pays occidentaux, elle est l'une des principales sources des protéines et d'énergie pour beaucoup de populations en Afrique, en Asie et en Amérique latine.

### 3.6. Intérêt en écotoxicologie

La fève est très sensible à la pollution du sol, ce qui en fait un modèle végétal très utilisé en éco toxicologie dans un grand nombre d'études.

Cette plante, utilisée aussi en agriculture, peut pousser sur des sols de différentes natures, d'où son intérêt dans les expériences de terrain.

## Partie II- Étude expérimentale

### 1. But de l'essai

Notre travail consiste à déterminer l'influence de la salinité combinée aux métaux lourds (Cu et Zn) sur la physiologie de la germination des graines de *Vicia faba* L.

### 2. Matériels et méthode

#### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est la fève (*Vicia faba* L.) de génotype Super Agadulce, de la famille des Fabacées. Ces graines sont fournies par le laboratoire de biodiversité et conservation des eaux et des sols.

*Vicia faba* présente de nombreux intérêts :

- Biomasse importante ;
- Croissance rapide ;
- Sensibilité aux métaux ;
- Taille cellulaire importante.



**Figure 10** : Graines de *Vicia faba* L.

La variété de *Vicia faba* utilisée est précoce, vigoureuse et très productive. Sa capacité germinative est estimée à 90 % avec un taux de pureté de 98 %. Les gousses de taille moyenne contiennent de 6 à 7 graines (fig. 10).

## 2.2. Méthode d'étude

### 2.2.1. Site de l'essai

L'expérimentation a été réalisée au sein du laboratoire du département de biologie et au laboratoire de biodiversité et conservation des eaux et des sols de l'université « Abdelhamid Ibn Badis » Mostaganem.

### 2.2.2. Conduite de l'essai

#### a. Traitement des graines

Les graines de (*Vicia faba* L.) sont désinfectées par un passage de quelques minutes dans l'hypochlorite de sodium à 12% diluée à demi, puis sont abondamment rincées par de l'eau distillée stérile, puis sécher sur papier absorbant à température ambiante (fig. 10).



(a) Graines désinfectées (b) Graines séchées

**Figure 11** : Préparation des graines de *Vicia faba* L.

### 2.2.3. Préparation des solutions

#### a. Solutions salines.

La solution saline préparée à base de NaCl (Tableau 3) est apportée selon différentes concentrations : 0 meq/l, 100 meq/l, 200 meq/l (fig. 11).

**Tableau 3** : Préparation de la solution saline (NaCl).

NaCl (meq/l)	100	200
NaCl g/l	5,85	11,7

#### b. Solutions métalliques

- Solution de sulfate de Cuivre : le cuivre est apporté sous forme de sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ) à différentes concentrations : 0 ppm (témoin), 100 ppm, 300 ppm, 500 ppm (fig. 19).

**Tableau 4 :** Solution de  $\text{CuSO}_4$

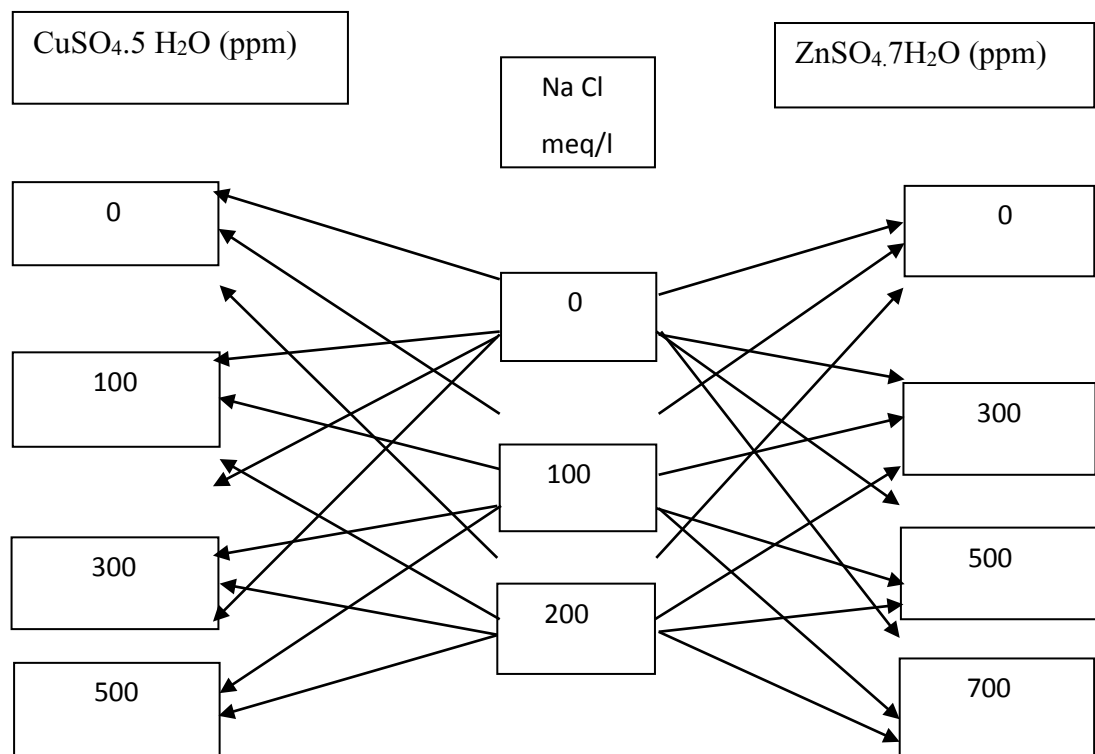
$\text{CuSO}_4$ (ppm)	100	300	500
(g/l)	0,4	1,2	2

➤ Solution de sulfate de Zinc : le zinc est apporté sous forme de sulfate de zinc ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) à différentes concentrations : 0 ppm, 300 ppm ,500 ppm ,700 ppm (fig. 12).

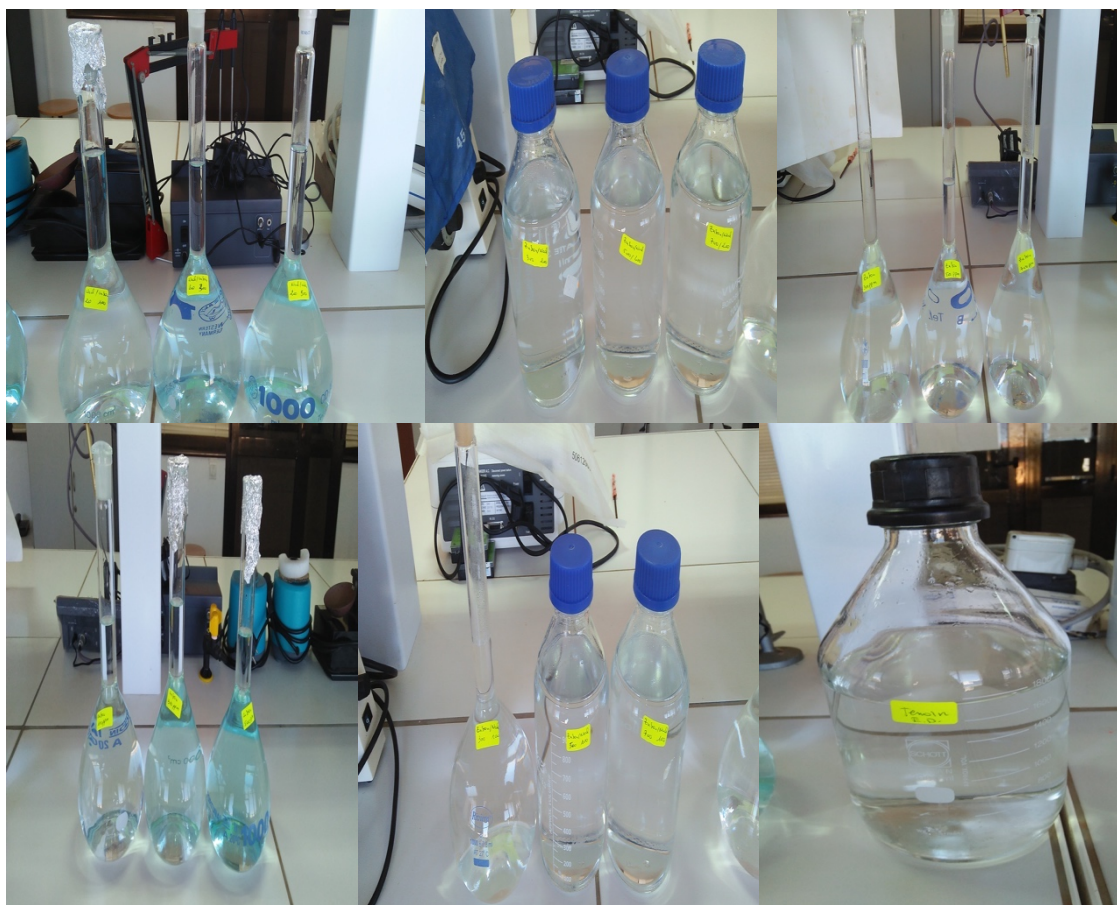
**Tableau 5 :** Solution de  $\text{ZnSO}_4$ .

$\text{ZnSO}_4$ (ppm)	300	500	700
(g/l)	1,32	2,2	3,08

**Solutions combinées (fig. 12).**



**Figure 12 :** Dispositif expérimental des différentes concentrations.



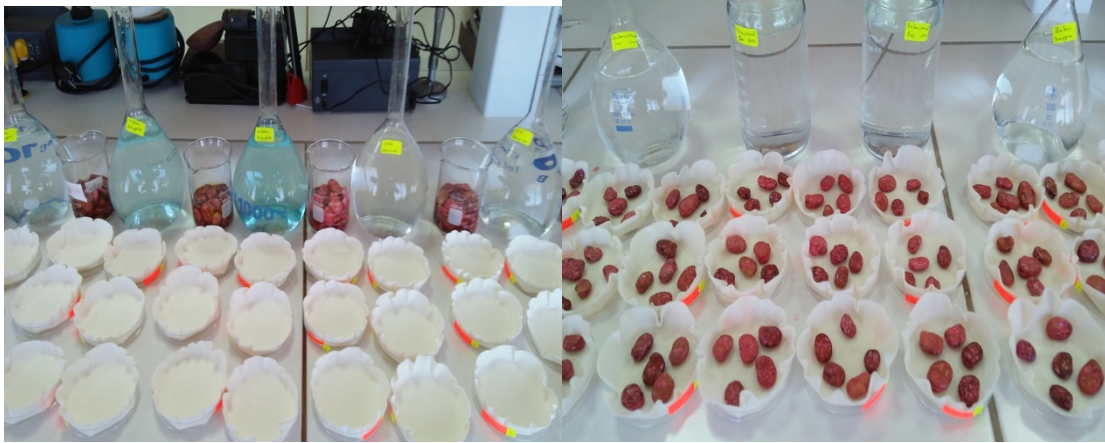
**Figure 13:** Préparation des différentes solutions de l'expérimentation.

#### 2.2.4. Préparation des boîtes pétries

Les boîtes de pétri utilisées sont stériles de diamètre de 8,5 cm, étiquetées puis tapissées de 4 couches de disques de papier filtre stérile (fig. 13). Dans chaque boîte de pétri, 5 graines sont semées bien distance les uns des autres, sur les disques de papiers filtres préalablement humidifiée avec 10 ml d'eau distillée stérile (lots témoins) et par 10 ml de différentes solutions de concentrations connues (les lots stressées) (fig. 14). Les expériences sont répétées 6 fois pour les lots stressés et le témoin. Tous les essais de germination sont effectués in vitro.

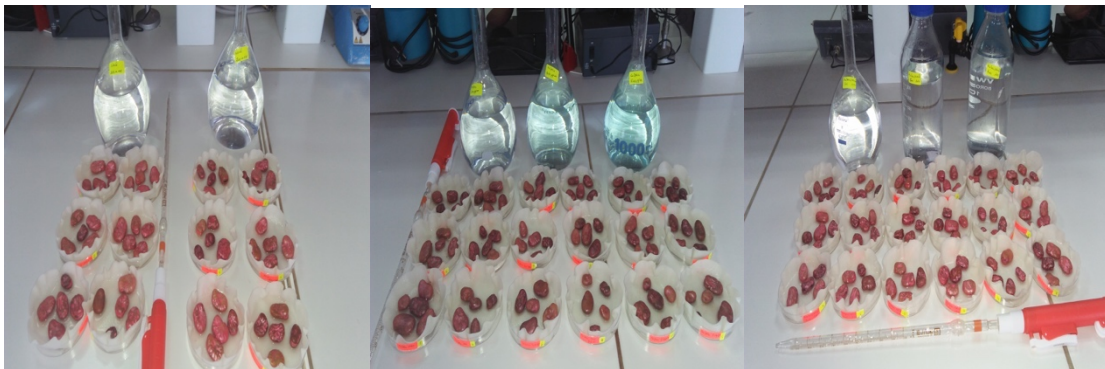
Chaque lot de graines de *Vicia faba* L. est mis à germer dans une étuve préalablement réglée à 23°C pendant 3 jours (fig. 15). Le stress est appliqué dès le premier jour pour tous les lots à raison de 10 ml/boîte pendant 21 jours d'expérience. Le critère adopté pour constater que la graine a germé ou pas, est celui d'Evenari (1957) qui stipule qu'une graine a germé si la radicule perce les téguments de 1 mm et devient apparente à l'œil nu (fig. 16).

Des observations quotidiennes permettent de noter le nombre de graines germé par jour pendant la durée d'expérimentation.



(a) : Les boites de péttries tapissées de papier filtre. (b) : Ensemencement des graines.

**Figure 14** : Préparation des boites de péttries.

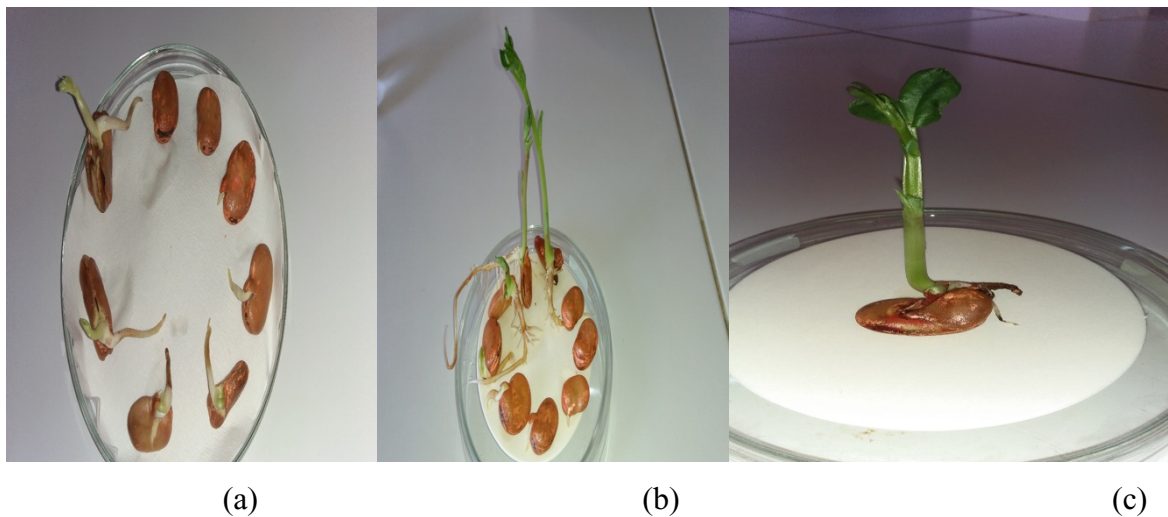


(a) : Application du stress Salin. (b) : Application du stress métallique. (c) : Application du stress Combiné.

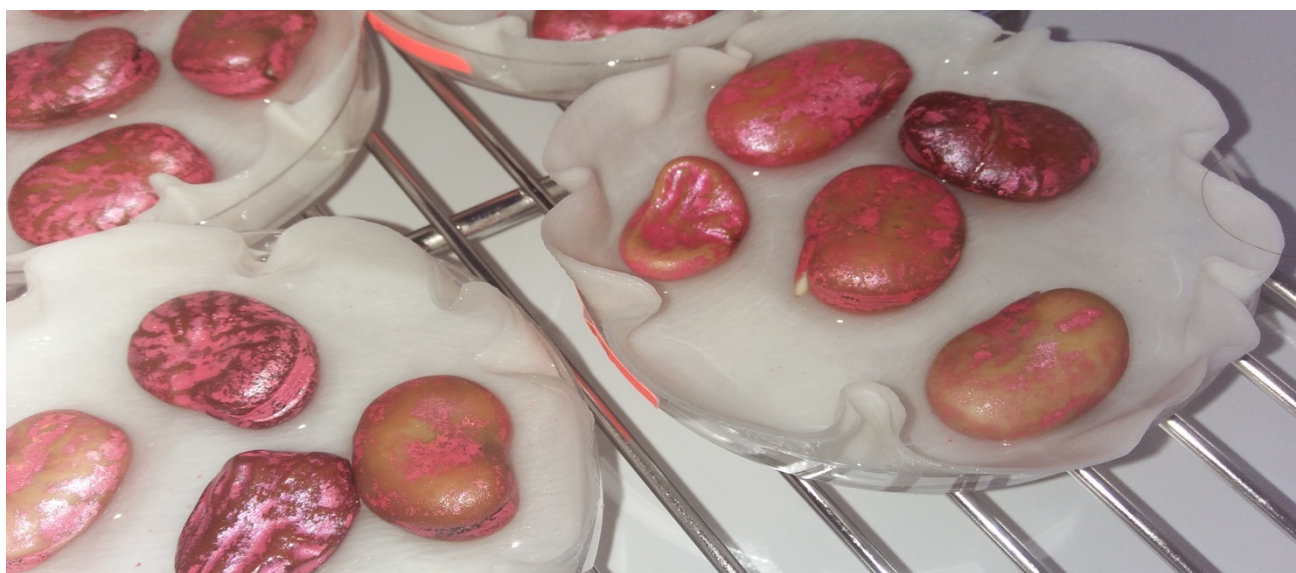
**Figure 15** : Différentes applications de stress.



**Figure 16** : Conditions de germination.



**Figure 17** : Etapes de germination in vitro (Rechidi, 2018).



**Figure 18** : Critères de germination : la percée de la radicule de 1 centimètre.

## 2.3. Paramètres étudiés

### 2.3.1. Taux de germination

Ce paramètre constitue le meilleur moyen d'identification de la concentration qui présente la limite physiologique de germination des graines. Il est exprimé par le rapport nombre de graines germées sur nombre total de graines.

$$\text{TG \%} = 100 \left( \frac{\text{XT}}{\text{N}} \right)$$

XT est le nombre total des graines germées.

N est le nombre total de graines mises à germer.

### 2.3.2. Vitesse de germination

Elle permet d'exprimer l'énergie de germination responsable de l'épuisement des réserves de la graine. La vitesse de germination est estimée par le temps moyen (t50) qui correspond à la germination de 50% du lot de graines.

La vitesse de germination est définie selon Côme (1970) comme étant le temps mis par les semences pour germer ; elle peut s'exprimer par un pourcentage, un temps ou un coefficient. Nous l'avons exprimée en taux selon la relation de Kotowski (1926) :

$$VG = \frac{N1 + N2 + N3 + \dots + Nn}{N1T1 + N2T2 + N3T3 + \dots + NnTn}$$

N1 : nombre de graines germées au temps T1

N2 : nombre de graines germées entre T1 et T2

### 2.3.3. Cinétique de germination

La cinétique de germination est une courbe de germination qui décrit le déroulement de la germination du lot de semences considéré placé dans des conditions bien précise. Elle représente le plus souvent l'évolution des pourcentages de germination cumulés en fonction du temps. Cette cinétique est établie à partir des taux cumulés de graines germées c'est-à dire la variation des taux de germination en fonction du temps exprimé en jour sous toutes les conditions de traitement testé. Les courbes de germination donnent une idée complète de l'évolution de la germination d'un lot de semences placé dans des conditions déterminées.

## 3. Analyse statistique

Les effets principaux de la concentration et le temps sur les différents paramètres de germination sont analysés statistiquement avec l'ANOVA pour un dispositif factoriel en utilisant le Modèle Linéaire Généralisé (General linear model, GLM) sous SPSS. Le test de comparaison multiple de Student et Neman Keuls SNK est appliqué pour comparer les moyennes avec l'écart-type au seuil de 5%.

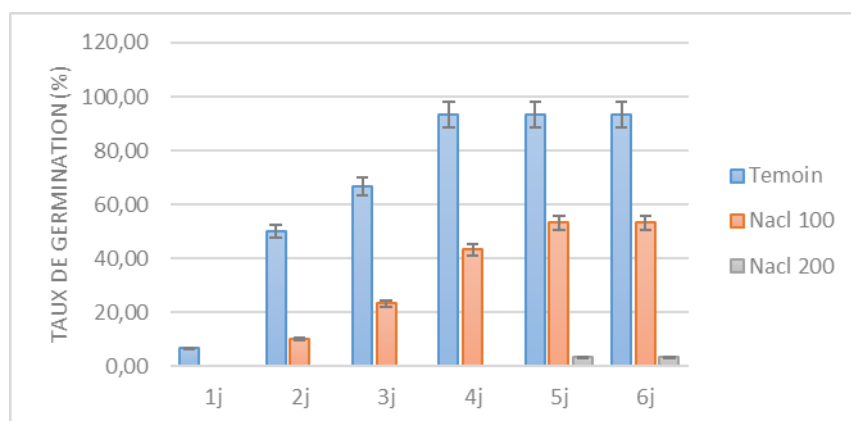
### Partie III. Résultats et discussion

#### 1. Effet de la salinité sur le taux de germination des graines de *Vicia faba* L.

**Tableau 6:** Valeurs des taux de germination de *Vicia faba* L. sous effet salin.

	1 <sup>er</sup> jour	2 <sup>ème</sup> jour	3 <sup>ème</sup> jour	4 <sup>ème</sup> jour	5 <sup>ème</sup> jour	6 <sup>ème</sup> jour
<b>0</b>	6,67±16,330	50±10,954	66,67±24,221	93,33±10,328	93,33±10,328	93,33±10,328
<b>100</b>	0,00±,000	10,00±16,733	23,33±23,381	43,33±4,448	53,33±7,325	53,33±27,325
<b>200</b>	0,00±,000	0,00± 0,000	0,00±,000	0,00± ,000	3,33±8,165	3,33±3,865

Les résultats dans le tableau 6 montrent qu'après le premier jour de germination, le taux de germination sous l'effet de la salinité est nul pour les concentrations 100 et 200 meq/l (contre 6.67 % chez le témoin). Ce taux de germination s'accroît avec le temps, ainsi, au 6<sup>ème</sup> jour de germination, les trois traitements donnent le maximum de graines germées avec 93.33, 53.33 et 3.33% respectivement par le témoin, 100 et 200 meq/l (**fig. 19**).



**Figure 19 :** Taux de germination de *Vicia faba* L. sous l'effet de la salinité.

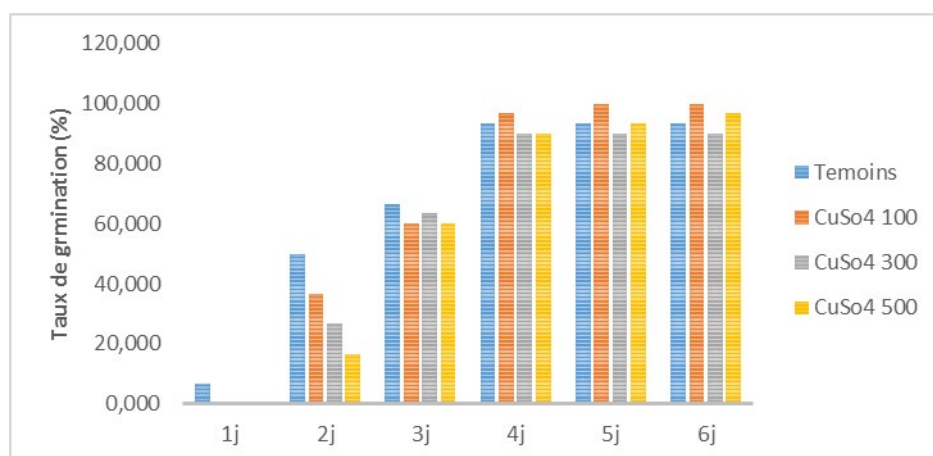
#### 2. Effet des métaux lourds sur le taux de germination des graines de *Vicia faba* L.

##### 2.1. Effet du Cuivre sur le taux de germination de la fève

**Tableau 7 :** Les valeurs des taux de germinations des graines stressées avec CuSO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O

	Témoin	100 CuSO <sub>4</sub>	300 CuSO <sub>4</sub>	500 CuSO <sub>4</sub>
<b>1<sup>er</sup> jour</b>	6,67±16,330	,00±,000	,00±,000	,00±,000
<b>2<sup>ème</sup> jour</b>	50,00±10,954	36,67±29,439	26,67±20,656	16,67±8,165
<b>3<sup>ème</sup> jour</b>	66,67±24,221	60,00±17,889	63,33±26,583	60,00±25,298
<b>4<sup>ème</sup> jour</b>	93,33±10,328	96,67±8,165	90,00±16,733	90,00±16,733
<b>5<sup>ème</sup> jour</b>	93,33±10,328	100,00±,000	90,00±16,733	93,33±10,328
<b>6<sup>ème</sup> jour</b>	93,33±10,328	100,00±,000	90,00±16,733	96,67±8,165

Après un jour de germination, les résultats dans le tableau 7 indiquent que le taux de germination des graines de *Vicia faba* L. traitées avec  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  est nul pour toutes les concentrations testées contre 6.67% pour le témoin. Ce taux de germination évolue avec le temps, puisque, après 6 jours de germination, les différents affichent des taux de 96.67, 100, 90 et 96.67 % respectivement sous l'effet du témoin, 100, 300 et 500 ppm de  $\text{CuSO}_4$  (Figure 20).



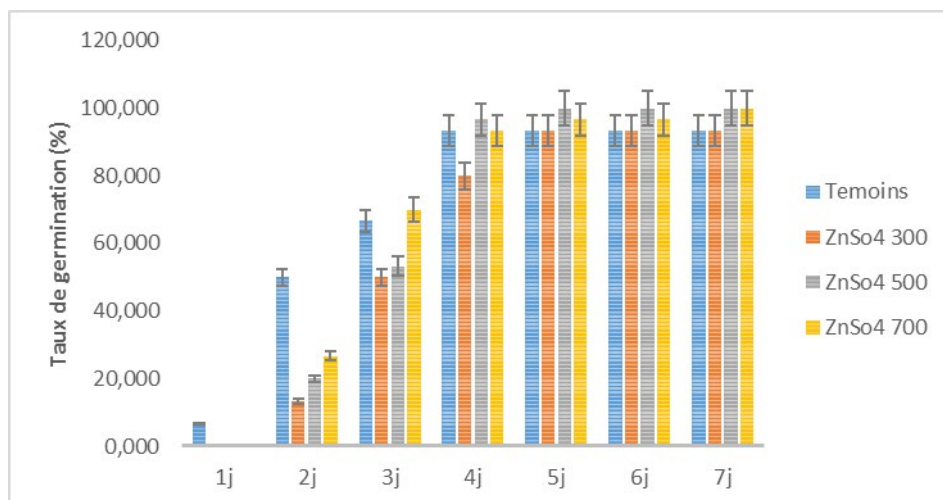
**Figure 20 :** Taux de germination des graines de *Vicia faba* L. sous effet de Cuivre.

## 2.2. Effet du Zinc sur le taux de germination de la fève

**Tableau 8 :** Les valeurs des taux de germination des graines stressées avec  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

	Témoin	300 ZnSO4	500 ZnSO4	700 ZnSO4
1 <sup>er</sup> jour	6,67±16,330a	,00±,000a	,00±,000a	,00±,000a
2 <sup>ème</sup> jour	50,00±10,954a	13,33±16,330b	20,00±25,298ab	26,67±30,111ab
3 <sup>ème</sup> jour	66,67±24,221a	50,00±32,863a	53,33±27,325a	70,00±20,976a
4 <sup>ème</sup> jour	93,33±10,328a	80,00±17,889a	96,67±8,165a	93,33±10,328a
5 <sup>ème</sup> jour	93,33±10,328a	93,33±16,330a	100,00±,000a	96,67±8,165a
6 <sup>ème</sup> jour	93,33±10,328a	93,33±16,330a	100,00±,000a	96,67±8,165a
7 <sup>ème</sup> jour	93,33±10,328a	93,33±16,330a	100,00±,000a	100,00±,000a

Les résultats dans le tableau 8 indiquent que le taux de germination est nul sous l'effet des trois concentrations de  $\text{ZnSO}_4$  contre 6.67 % enregistré par les graines témoins au 1<sup>er</sup> jour de germination. Après six jours de germination, les différents traitements enregistrent une évolution dans le taux de germination pour donner 93.33, 100 et 100% sous l'effet respectif de 300, 500 et 700 ppm de  $\text{ZnSO}_4$  contre 93.33% pour le témoin (Figure 21).



**Figure 21 :** Taux de germination de la fève sous l'effet de Zinc.

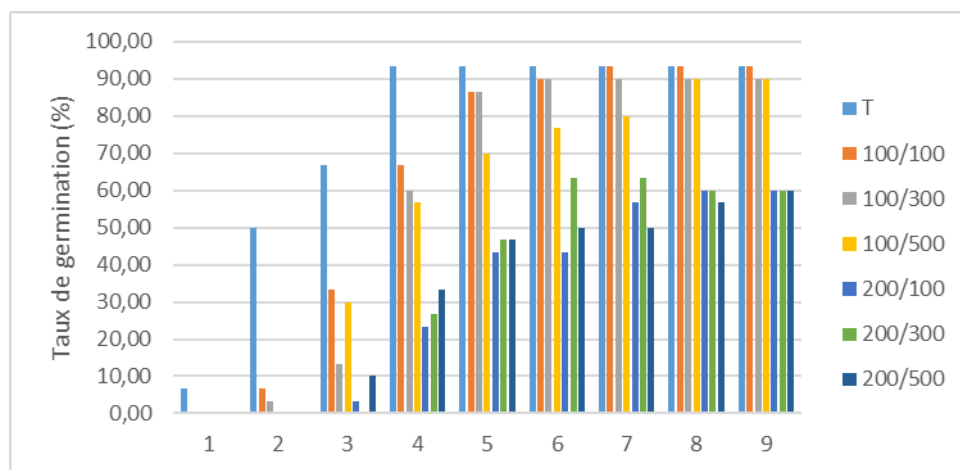
### 3. Effet combiné (salinité et métaux lourds cas Cu, Zn) sur la germination de la fève *Vicia faba*L..

#### 3.1. Salinité-cuivre

**Tableau 9 :** Les valeurs des taux de germination des graines de *Vicia faba* sous l'effet combiné du stress (NaCl-CuSO<sub>4</sub>).

	1 <sup>er</sup> jour	2 <sup>ème</sup> jour	3 <sup>ème</sup> jour	4 <sup>ème</sup> jour	5 <sup>ème</sup> jour	6 <sup>ème</sup> jour	7 <sup>ème</sup> jour	8 <sup>ème</sup> Jour	9 <sup>ème</sup> jour	Moyenne
<b>Témoin</b>	6,67+- 16,30	50,00+- 10,954	66,67+- 24,221	93,33+- 10,328	93,33+- 10,328	93,33+- 10,328	93,33+- 10,328	93,33+- 10,328	93,33+- 10,328	75,93+- 31,414
<b>100/100</b>	,00+- ,000	6,67+- 10,328	33,33+- 16,330	66,67+- 16,330	86,67+- 10,328	90+- 10,954	93,33+- 10,328	93,33+- 10,328	93,33+- 10,328	62,59+- 38,470
<b>100/300</b>	,00+- 0,000	3,33+- 8,165	13,33+- 16,330	60,00+- 12,649	86,67+- 10,328	90,00+- 10,954	90,00+- 10,954	90,00+- 10,954	90,00+- 10,954	58,15+- 40,051
<b>100/500</b>	,00+- ,000	,00+- ,000	30,00+- 10,954	56,67+- 15,055	70,00+- 16,733	76,67+- 15,055	80,00+- 12,649	90,00+- 10,954	90,00+- 10,954	54,81+- 36,068
<b>200/100</b>	,00+- ,000	,00+- ,000	3,33+- 8,165	23,33+- 19,664	43,33+- 19,664	43,33+- 19,664	56,67+- 26,583	60,00+- 28,284	60,00+- 28,284	32,22+- 30,694
<b>200/300</b>	,00+- ,000	,00+- ,000	,00+- ,000	26,67+- 10,328	46,67+- 20,656	63,33+- 19,664	63,33+- 19,664	60,00+- 21,909	60,00+- 21,909	35,56+- 31,243
<b>200/500</b>	,00+- ,000	,00+- ,000	10,00+- 16,733	33,33+- 16,330	46,67+- 20,656	50,00+- 16,732	50,00+- 16,732	56,67+- 23,381	60,00+- 21,909	34,07+- 27,916

Les résultats dans le tableau 9 montrent que le taux de germination en 1<sup>er</sup> jour est de 0.00% pour les différentes concentrations contre 6.67 % de taux de germination chez les graines témoins. Après 9 jours de germination, les différents traitements combinés (NaCl-CuSO<sub>4</sub>) affichent 62.59, 58.15, 54.81, 32.22, 35.56 et 34.07 % respectivement sous l'effet de 100/100, 100/300, 100/500, 200/100, 200/300 et 200/500 contre 75.93 % pour le témoin.



**Figure : 22.** Effet combiné du NaCl et CuSO<sub>4</sub> sur le taux de germination de la fève.

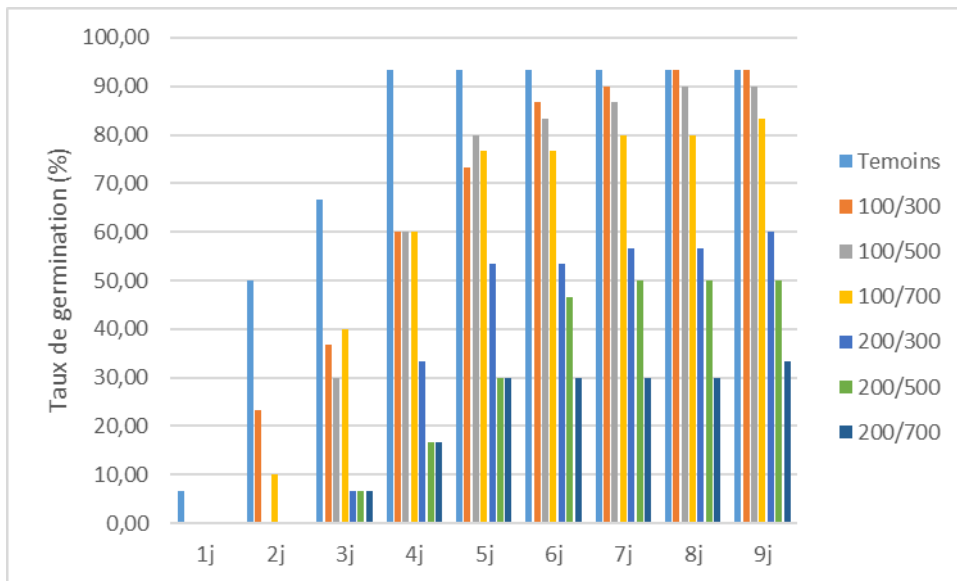
### 3.2. Salinité-Zinc

**Tableau 10 :** Les valeurs des taux de germination de *Vicia faba* L. sous l'effet combiné du stress (NaCl-ZnSO<sub>4</sub>).

	1 <sup>er</sup> jour	2 <sup>ème</sup> jour	3 <sup>ème</sup> jour	4 <sup>ème</sup> jour	5 <sup>ème</sup> Jour	6 <sup>ème</sup> jour	7 <sup>ème</sup> jour	8 <sup>ème</sup> Jour	9 <sup>ème</sup> jour	moyenne
<b>Témoin</b>	6,67+- 16,330	50,00+- 10,954	66,67+- 24,221	93,33+- 10,328	93,33+- 10,328	93,33+- 10,328	93,33+- 10,328	93,33+- 10,328	93,33+- 10,328	75,93+-31,414
<b>100/300</b>	,00+- ,000	23,33+- 15,055	36,67+- 15,055	60,00+- 12,649	73,33+- 24,211	86,67+- 20,656	90,00+- 16,733	93,33+- 16,330	93,33+- 16,330	61,85+-36,086
<b>100/500</b>	,00+- ,000	,00+- ,000	30,00+- 20,976	60+- 35,777	80,00+- 17,889	83,33+- 15,055	86,67+- 10,328	90,00+- 10,945	90,00+- 10,954	57,78+-39,366
<b>100/700</b>	,00+- ,000	10,00+- 10,954	40,00+- 21,909	60,00+- 12,649	76,67+- 8,165	76,67+- 8,165	80,00+- 12,649	80,00+- 12,649	83,33+- 15,055	56,30+-32,754
<b>200/300</b>	,00+- ,000	,00+- ,000	6,67+- 10,328	33,33+- 20,656	53,33+- 32,660	53,33+- 32,660	56,67+- 32,042	56,67+- 32,042	60,00+- 28,284	35,56 +-33,796
<b>200/500</b>	,00+- ,000	,00+- ,000	6,67+- 10,328	16,67+- 19,664	30,00+- 24,495	46,67+- 32,660	50,00+- 32,863	50,00+- 32,863	50,00+- 32,863	27,78+-30,939
<b>200/700</b>	,00+- ,000	,00+- ,000	6,67+- 10,326	16,67+- 8,165	30,33+- 10,954	30,33+- 10,954	30,33+- 10,954	30,33+- 10,954	33,33+- 16,330	19,63+-16,248

Les résultats dans le tableau 10 montrent que le taux de germination est nul au premier jour de germination pour les différentes concentrations contre 6.67 % de taux de germination chez les graines témoins. Après 9 jours de germination, les différents traitements combinés

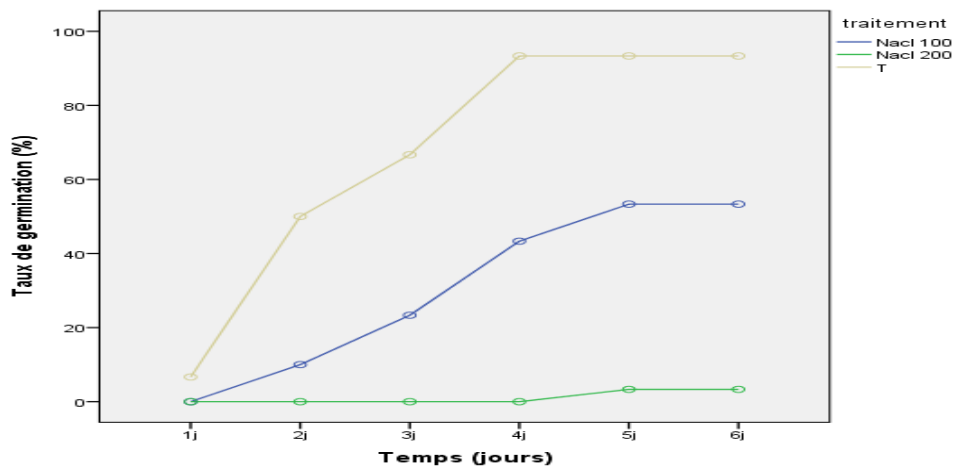
(NaCl-ZnSO<sub>4</sub>) affichent 93.33, 90, 83.33, 60, 50 et 33.33 % respectivement sous l'effet de 100/300, 100/500, 100/700, 200/300, 200/500 et 200/700 contre 93.33% pour le témoin.



**Figure 23 :** Effet combiné de NaCl et Zn SO<sub>4</sub> sur le taux de germination de la fève.

#### 4. Cinétique de germination

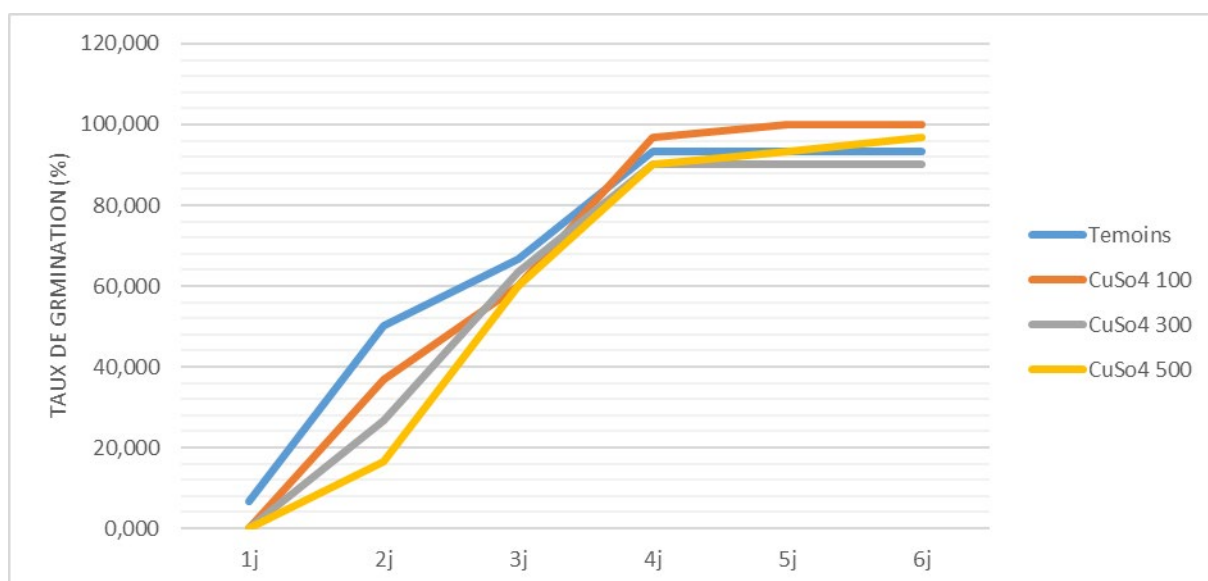
##### 4.1. Cinétique sous effet de NaCl



**Figure 24 :** Courbe de cinétique de germination de *Vicia faba*L. Sous effet du stress salin.

Les graines témoins présentent une courbe cinétique très importante par rapport au traitement de 100 NaCl, alors que le traitement donne une évolution cinétique très faible (Figure 24).

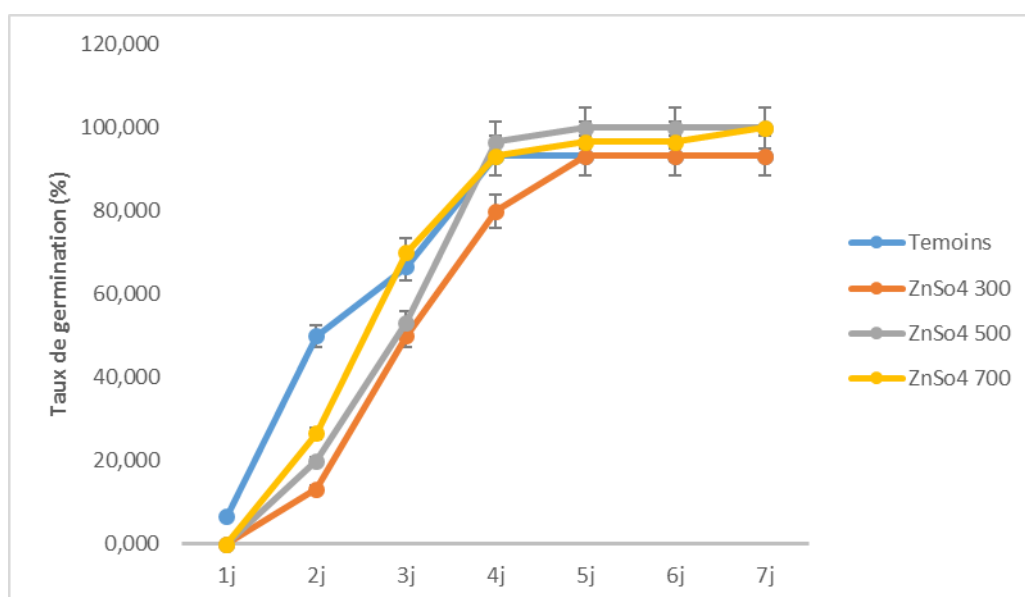
## 4.2. Cinétique sous effet de $\text{CuSO}_4$



**Figure 25.** Courbe de cinétique de germination de *Vicia faba* L. Sous effet du stress métallique cas du Cuivre.

La figure 25 montre une évolution cinétique du taux de germination sous l'effet des trois doses de  $\text{CuSO}_4$ , de même, nous observons que la courbe du témoin suit la même cinétique. Cependant, la dose de 100  $\text{CuSO}_4$  présente une meilleure cinétique de germination avec 100%, suivie de la dose de 500 avec 96.67%, celle-ci, elle précède le témoin et la dose de 300 qui enregistrent une cinétique de 90%.

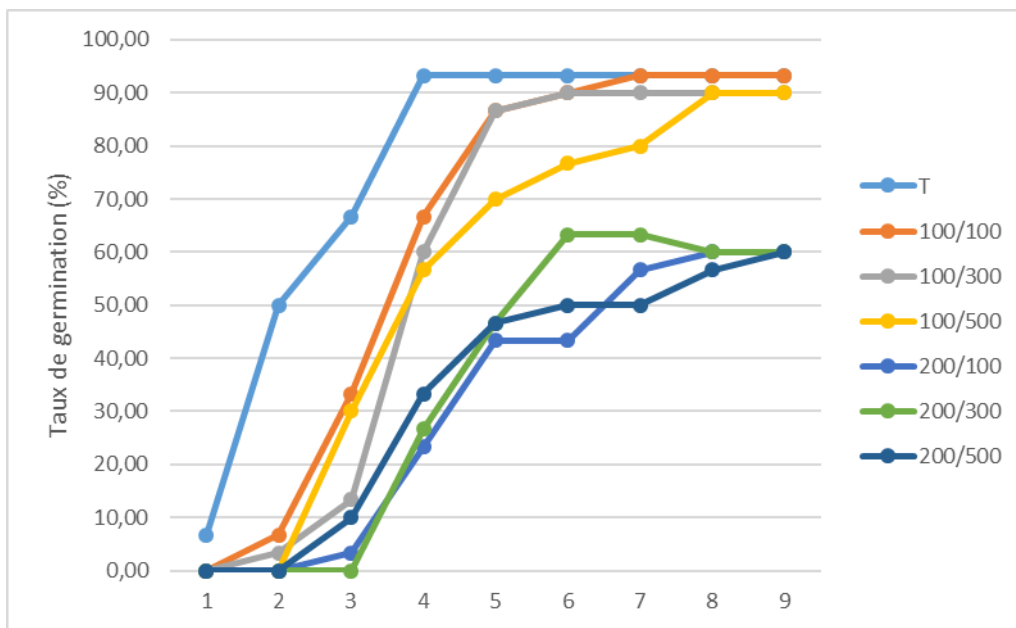
## 4.3. Cinétique sous effet de $\text{ZnSO}_4$



**Figure 26 :** Courbe de cinétique de germination de *Vicia faba* L. sous l'effet métallique cas Zinc.

L'évolution de la courbe cinétique de germination sous l'effet des différentes concentrations de Zn enregistre des courbes similaires des doses 500, 700 et du témoin en fin de cycle avec 100% contre la dose de 300 qui évolue pour atteindre 93.33% au 7<sup>ème</sup> jour de germination.

#### 4.4. Cinétique sous effet combiné cas (NaCl-CuSO<sub>4</sub>).



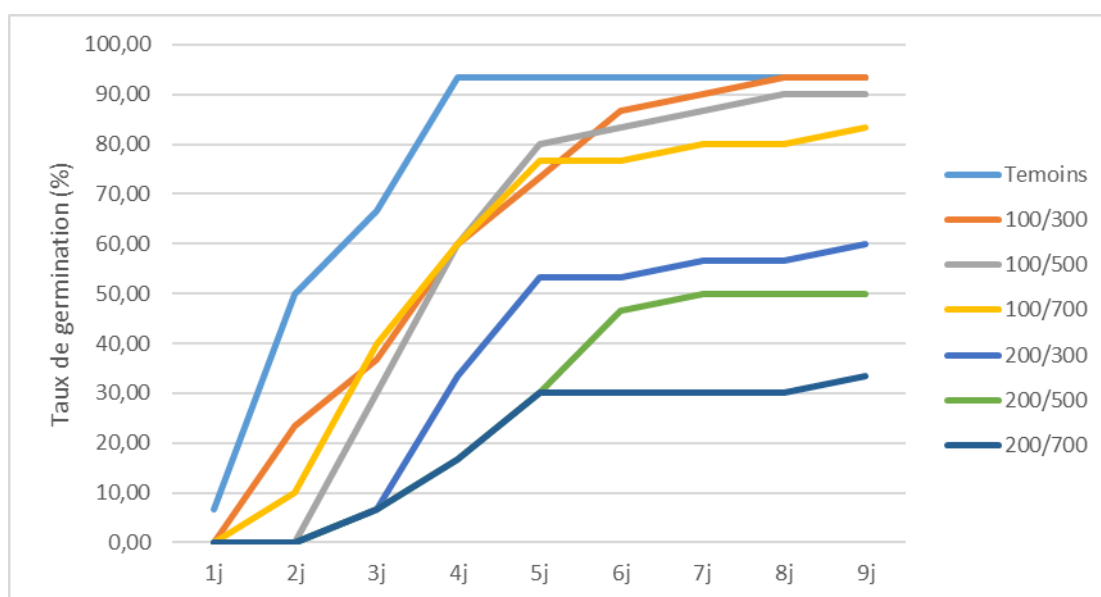
**Figure 27 :** Courbe de cinétique de *Vicia faba* L. sous l'effet du NaCl-Cu.

La figure 27 indique une courbe de cinétique de la germination de la fève sous l'effet combiné NaCl/Cu qui évolue différemment selon la combinaison et selon la dose. Ainsi, le témoin, 100/100, 100/300 et 100/500 donnent une courbe cinétique qui avoisine les 90%, en revanche, les combinaisons 200/100, 200/300 et 200/500 ne dépassent pas les 60%.

#### 4.5. Cinétique sous effet combiné cas (NaCl- ZnSO<sub>4</sub>)

La figure 28 affiche une évolution de la courbe de germination avec une cinétique différente selon la combinaison et selon la dose apportée. Le taux de germination de la fève sous l'effet combiné NaCl/Zn évolue différemment. Les différents traitements 100/300, 100/500 et 100/700 évoluent de la même manière que le témoin entre 83.33 et 90%.

Cependant, les différentes combinaisons 200/300, 200/500 et 200/700 enregistrent respectivement 60, 50 et 33.33%.



**Figure 28** : courbe de cinétique de germination de *Vicia faba* L. sous effet du NaCl et Zinc.

## 5. Vitesse de germination

### 5.1. La vitesse de germination des graines de la fève sous l'effet du stress salin

**Tableau 11** : Les valeurs de la vitesse de germination sous l'effet de la salinité.

	Traitement			F et sig	R <sup>2</sup> ajusté
	Témoin	Nacl 100	Nacl 200	141.16***	0.943
	0,38±0,017a	0,256±0,045b	0,0967±0,012c		

\*\*\*  $P < 0.001$

### 5.2. La vitesse de germination des graines sous l'effet du stress métallique cas Cuivre et Zinc

#### 5.2.1. Cas du Cuivr

#### 5.2.2.

La vitesse de germination n'est affectée par les différentes concentrations croissantes du cuivre, car, les valeurs se rapprochent de celle du témoin.

**Tableau 12 :** Les valeurs de vitesse de germination sous l'effet de stress métallique (Cuivre).

	Traitement				F et sig	R <sup>2</sup> ajusté
	Témoin	CuSo4 100	CuSo4 300	CuSo4 500	3.38*	0.240
	0,38±0,017a	0,35±0,045ab	0,31±0,04b	0,31±0,052b		

\* $P < 0.05$

### 5.2.2. Cas du Zinc

La vitesse de germination des graines traitées au sulfate de zinc à différentes concentrations montre une légère diminution par rapport au témoin.

**Tableau 13 :** Les valeurs de vitesse de germination de la fève sous l'effet du stress métallique (Zinc).

	Traitement				F et sig	R <sup>2</sup> ajusté
	Témoin	ZnSo4 300	ZnSo4 500	ZnSo4 700	4.54*	0.316
	0,3800±,01789a	0,29±0,048b	0,30±0,04b	0,33±0,065ab		

\* $P < 0.05$

### 5.3. La vitesse de germination des graines sous l'effet du stress salin et métallique.

#### 5.3.1. Cas stress salin /Cuivre

La vitesse de germination de graines stressées avec des solutions combinées NaCl/Cu est diminuée pour atteindre les 0,13 et 0,16 % sous l'effet successif de 100 et 200 meq/l.

**Tableau 14 :** Les valeurs de la vitesse de germination de la fève sous l'effet combiné (NaCl/Cu).

	Traitement						F	R <sup>2</sup>
Témoin	100/100	100/300	100/500	200/100	200/300	200/500	21.6***	0.75
0,38±0,01a	0,25±0,02b	0,23±0,01bc	0,22±0,02bc	0,21±,04bc	0,19±,01c	0,22±,0bc		

\*\*\* $P < 0.001$

### 5.3.2. Cas stress salin /Zinc

**Tableau 15 :** Les valeurs de la vitesse de germination de la fève sous effet combiné NaCl/Zn.

							F	R <sup>2</sup>
Témoin	100/300	100/500	100/700	200/300	200/500	200/700		
0,38±0,02	0,2633±0,05b	0,25±0,05b	0,28±0,11	0,21±0,04b	0,16±0,08	0,21±0,06b	5.84**	0.4
a	c	c	b	c	c	c	*	1

\*\*\* $P < 0.001$

La vitesse de germination des graines stressées avec des solutions combinées NaCl/Zn est affectée de 0.13 et de 0.12 % pour les lots traités avec 100 et 200 meq/l/.

## Discussion

Les informations apportées par notre étude pour répondre et comprendre le comportement d'une légumineuse, la fève *Vicia faba* L. soumise à des contraintes abiotiques comme la salinité, le stress métallique (Cu et le Zn et leur combinaison) à différentes concentrations. Durant une période de 21 jours d'expérimentation in vitro, le comportement physiologique de la graine va être élucidé au cours de la germination.

Les résultats enregistrés montrent que les paramètres germinatifs sont influencés par la salinité. Puisque, les effets les plus élevés sont enregistrés sous le traitement de 200 meq/l de NaCl, cette concentration est la moins tolérée par la graine pendant la germination. L'explication de cette inhibition est l'augmentation de la pression osmotique dans le milieu de germination, qui ralentit l'imbibition et limite l'absorption de l'eau nécessaire au déclenchement des processus métabolique (Hajlaoui et *al.*, 2007). Le NaCl affecte la perméabilité de la membrane plasmique et rend la paroi plus rigide (Nabil et Condret, 1995).

Le taux final est le paramètre le moins affecté par la salinité comparativement à la cinétique et la vitesse de germination. Mais avec un retard de germination enregistré qui nécessite une durée de 14 jours pour atteindre un taux de germination de 80 % contre 93 % du témoin au 4<sup>ème</sup> jour, 50 % (100 meq/l du 2<sup>ème</sup> jour) et 3 % du 5<sup>ème</sup> jour (200 meq/l).

Le retard de germination enregistré n'affecte pas le rendement final d'une culture sur le plan agronomique, mais la capacité germinative qui en est déterminante (Askri et *al.*, 2007). Les courbes sont significatives d'un stress salin d'où la cinétique de germination est liée aux différentes concentrations appliquées et au paramètre du taux de germination.

La concentration de 200 meq/l inhibe la cinétique et montre l'effet indésirable du NaCl. La courbe de cette concentration est caractérisée par une phase de latence très longue et un taux de germination de 3,33 % comparant à la courbe du témoin qui comprend trois phases distinctes dont la phase latence est très courte avec un taux de germination de 93,33 %. L'analyse des résultats montre que la vitesse de germination enregistre une diminution lorsque les solutions sont exclusivement salines. Le témoin enregistre une vitesse de 0.38 avec une diminution : 0, 25 (100 meq/l) puis 0,09 (200 meq/l).

Le cas du stress métallique le taux de germination atteint les 100 % sous différentes concentrations croissantes pour le cuivre et zinc, plus élevé que celui du témoin (93,33%). Cela signifie que ces deux métaux ont un rôle physiologique important durant la phase de germination et que l'apport en doses élevées n'a pas affecté l'utilisation de ces métaux par la graine. Les courbes de cinétiques des métaux suivent l'évolution de la

cinétique du témoin. La vitesse germination est inférieure à celle du témoin. Ces résultats montrent que le cuivre et le zinc ont un rôle majeur et considéré comme des métaux essentiels au déclenchement de la germination chez les végétaux.

Le cas du stress combiné le taux de germination était affecté par les doses combinées à 200 meq/l, une réduction du taux de germination de 30 % était déduite. La cinétique de même était touchée à cette concentration. La vitesse de germination beaucoup inférieur à celle du témoin.

## Conclusion

Cette étude expérimentale a été entreprise dans le but d'étudier l'effet de la salinité, métaux lourds cas cuivre et zinc et l'effet combiné des deux stress à différentes concentrations sur les paramètres physiologiques de la fève *Vicia faba* L.

En résumé, l'ensemble des résultats obtenus dans notre travail comparé à ceux rapportés dans la littérature nous permettent de suggérer l'hypothèse suivante :

Le taux de germination obtenu par les graines de la variété super Aguadulce est de l'ordre de 90 %. La réduction des paramètres de germinations (taux et cinétique de germination, la vitesse de germination) est observée lorsque les graines sont soumises à trois types de stress :

- Stress salin
- Stress métallique cas cuivre, zinc.
- Stress combiné

A différentes concentrations comparées aux plantes témoins non traité. L'influence du stress provoquée par la salinité se traduit par inhibition de la germination à la concentration de 200 meq/l, ce qui montre que les graines tolèrent le NaCl à une dose inférieure de 200 meq/l et que cette concentration est toxique.

L'influence du stress appliqué par les métaux lourds cas cuivre et zinc est démontré au niveau de la vitesse de germination ou il y a une réduction pour le cuivre par rapport au témoin contrairement à l'effet de zinc qui fait augmenter la vitesse de germination par des concentrations appliquées du moins élevées au plus élevées.

Le taux de germination a atteint 100% pour les deux cas de métaux. La cinétique de germination suit celle du témoin, ce qui explique le rôle indispensable et majeur de ces métaux pour le bon déclenchement de ce processus, et on peut dire que le cuivre et le zinc sont des oligo-éléments tolérés par les graines même à des concentrations élevées.

Dans notre expérience, le cuivre est plus toxique que le zinc aux concentrations 300 et 500 ppm avec une réduction de la croissance des racines suivi d'une chlorose ferrique.

Le taux de germination sous l'effet combiné a atteint 93 % pour les deux cas traités avec la concentration de 100 meq/l. Par contre une réduction de 30% est déduite avec la dose de 200 meq/l, les courbes cinétiques confirment ce résultat avec une germination très tardive.

Enfin, les deux stress testés (la salinité et les métaux lourds cas cuivre et zinc) ont joué un rôle physiologique important dans le déclenchement du processus de germination qui est

une étape vulnérable. Les différents stress appliqués dans cette étude montrent que la germination est affectée par certaines concentrations en sel et pas en métaux cas du cuivre et zinc. En plus, le matériel végétal de *Vicia faba* L. utilisé dans notre étude a montré la sensibilité des graines à ces contraintes abiotiques pour les utiliser comme indicateur d'un sol contaminé.

## Références bibliographiques

- Adreini C, Banci L, Bertini I and Rosato A (2006).**Counting the zinc –proteins en code in the human génome. Journal of proteome Research5, 196-201.
- Adriano DC, Paulsen GM and Murpy LS (1971).**Phosphorus-iron and phosphorus-Zinc relation ships in corn seedling as affected by mineral nutrition.Agron.J.ch :63.36-39.
- Afnor (1988).** Prélèvement et dosage du plomb dans les aérosols .Paris. La Défense.
- Al –Karaki GN (2000).** Growth, water use efficiency and Sodium, Potassium acquisition by tomato cultivars grown under salt stress .journal of plant nutrition, vol 23, no1 :1-8.
- Alloway BJ(1995).**Soil processes and the behavior of metals .In heavy metals in soils. Second Ed. Alloway BJ. Blackie academic and Professional Glasgow . pp 11-37.
- Altaf W (2007).** Botanical environmental monitors for Zinc pollution resulting from vehicular traffic .Journal of Radio analytical and nuclear chemistry271, 665-670.
- Anne T, Isabelle F (2005).** Contamination des sols, transfert sol-plante des éléments traces. Ed. EDP Sciences et Academic. Paris. France.
- Asloum H (1990).** Elaboration d'un système de production maraîchère (tomate, *Lycopersicum esculentum L.*).En culture hors sol pour les régions saharienne. Utilisation de substrat sableux et d'eaux saumâtre. Thèse de doctorat, développement et amélioration des végétaux, université de Nice. Sophia-Antipolis, 24-32.
- Askri H., Rejeb S., Jebari H., Rejeb M N (2007).**Effet du stress salin sur la germination de quelques espèces du genre Atriplex: 51-55.
- Baatour O, M'rah S, Benbrahim N, Boulesnem F, Lachaal M (2004).** Réponse physiologiques de la gess (*Lathyrus Sativus*) à la salinité du milieu. Revue des régions arides. Tome 1, no spécial : 346-358.
- Baba sidi Kaci Safia (2010).** Effet du stress salin sur quelque paramètres phoenologiques (biométrie, anatomie) et nutritionnels de l'Atriplex en vue d'une valorisation agronomique, thèse de magistère
- Baize D( 1997).**Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols410p, INRA Ed, Paris, France.
- Baker AJM, MC Grath sp, Reeves RD,Smith JAC (1989).**Metals hyper-accumulator .a review of the ecology and physiology of biological ressource for phytoremediation of polluted soils. In TERRY N .BANUELOS.GS. Ed phytoremediation Ann Arbor press.MI.
- Baker AJM, Walker PL (1989 a).**Ecophysiology of metal uptake by tolérant plants in heavy metals tolérant plant .Evolution aspects .CRC press. BOCA Raton FL.
- Balsberg pahlsson AM (1989).**Toxicity of heavy metals (Zn,Cu,Cd,Pb) to vascular plants Water,Air,Soil pollut 47.287-319.
- Bargagli R, Cateni D, Nelli L (1997).**Environnement impact of trace element emissins from geothermal power, air and soil pollution.
- Ben Naceur M, Rahmoun C, Sdiri H ,Meddahi M and Selmi M (2001).** Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en graines de quelques variétés maghrébines de blé, sécheresse, 12-4-167-174.

**Bennett MD (1976).** DNA amount, latitude and crop plant distribution. Environ. EXP. Bot 16. (2-3) :93-98. IN1-IN2, 99-108.

**Béraud E, Cotellet S Leroy P, Ferard JF (2007).** Genotoxic effets and induction of phytochelatins in the présence of cadmium in *Vicia faba* roots, Mutat. Res-Genet Toxicol. Environ. Mutag. 633(2) :112-116.

**Bishop NJ (1966).** Partial réactions of photo synthesis and photoréduction. Ann Revu. Plant physiol. ch :17.185-208.

**Boawn LC, Rasmussen PF (1971).** Crop reponse to excessive Zinc fertilization of alkaline soils. Agron J. ch :63.874-876.

**Bouchoukh(2010).** Comportement écophysologique de deux chénopodiacées des genres Atriplex et Spinacia soumise au stress salin p16-29-6-35 .

**Bourelier PH, Berthelin J (1998).** contamination des sols par les éléments traces. Les risques et leur gestion. Rapport n°42 Ed. Technique et documentation. Paris, 13p.

**Bouteyre G, Loyer Y (2003).** Sols salés eaux saumâtre des régions arides tropicales et méditerranéennes, l'aridité, une contrainte au développement. ORSTOM, Paris.

**Broadley MR, White PJ, Hammond JP, Zelko I and Lux A (2007).** Zinc in plants .New phytologist 173,677-702.

**Boyardieu J(1991).** Produire des grains oléagineux. Lavoisier Tec et Doc:Paris-France.

**Brun J-P, Ballard J-F et le corre C(1991).** Identification of Ordovician block-tilting in the Hercynian fold-belt of central Brittany(France).

**Bryssine (1961).** La salinité du sol et ses problèmes.

**Bussler B(1981).** Physiological function and utilization of copper in JF Loneragan, AD Robson and RD Graham Eds. Copper in soil and plants, proceedings of the golden jubilee international symposium on «copper in soils and plants». Murdoch university. Perth. Academie press Sydney. 213-234.

**Carles J, Calmes J, Magny J et Pulou R (1969).** La distribution du Zinc et sa toxicité dans les plantes CR. Acad. Sci. Paris .série D.268-516-519.

**Carlson C-L, Adriano D-C, Sajwan K-S, Abels S-L, Thoma D-P et Driver J-T(1991).** Effects of selected trace metals on germinating seeds of six plant species. Water, air, soil pollution. 59, pp-231-240.

**Calu G (2006)** .Effet du stress salin sur les plantes. Comparaison entre deux plantes modèles :*Arabidopsis thaliana* et *Thellungiella halophila*.

**Cecchi M (2008).** Devenir du plomb dans le système Sol-plante : cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (fève et tomate). thèse de doctorat .Institut national poly technique de Toulouse.

**Chaney RL (1993).** Zinc phytotoxicity in : Zinc in soil and plants. Ed Robson AD. pp135-150 in soil, Kuwer Academy, Dordrecht, the Netherlands.

**Chaoui, Mazhoudi S, Ghorbal M H and El Ferjani E (1997).** Cadmium and Zinc : induction of lipid peroxidation and effects on anti-oxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris L.*) Plant science 127, 139-147.

**Chaux and Foury CL (1994).** Production légumière : légumineuse potagères, légumes, fruits Ed TEC et DOC, Lavoisier, 563pp.

Cherbury B(1991). Les sols salés et leurs réhabilitations. Etude bibliographique. ENSA Renne : 124p.

**Cheverry (1995).** Plant behaviour in saline environment. Action eau n°4. Séance spécialisée du 22 mars 1995. Ed acad. agro. Paris. France. 49p.

**Colangelo Ep and Guerinot ML(2006).** Put the metal to the petal: metal uptake and transport. throughout plants. current opinion in plant. Biology 9,322-330.

**Colomb G(1999).** Mobilisation des éléments traces minéraux par les plantes dans différentes stations, cas particulier de la betterave sucrière (*Beta Vulgaris L.*). Mémoire d'ingénieur ESA purpar /INRA/ITB.

**Come D (1970).** Les obstacles à la germination, Masson Ed, Paris.

**Cotelle S(1999).** Etude de la génotoxicité et matrices complexes à l'aide de plantes supérieures. Metz. Université du Metz. 179p.

**Dajoz R (2000).** Eléments d'écologie. Ed Danod, Paris, 8ème, 631pp.

**De Marco A, De Simone c, Raglione M, Lorenzoni P(1995).** Influence of soil characteristics on the clastogenic activity of maleic hydrazide in root tips of *Vicia faba* Mutat. Res-Genet. Toxicol. Environ. Mutag. 344(1-2) :5-12.

**Degrassi F, Rizzoni M(1982).** Micronucleus test in *Vicia faba*. root tips to detect mutagen damage in fresh-water pollution. Mutat. Res- Environ. Mutag Related Subj97(1) :19-33.

**Deng T, Ye ZH and wong MH(2006).** Lead and Zinc accumulation and tolérance in population of six wetland plants Environmental pollution141, 69-80.

**Duan CQ, Hu B, Jiang x-h(1999).** Genotoxicity of water samples from Dianchi lake detected by the *Vicia faba*. Micro nucleus test. Mutat. Resfundam. MOL. Mech. Mutag. 426(2) :121-125.

**Dutuit P, Pourrat Y et Dutuit J.M(1994).** La notion de stress de la cellule à l'écosystème. Séchresse5:23-31.

**Eide DJ(2006).** Zinc transporters and the cellular trafficking of zinc. Biochimica et biophysica Acta (BBA)-Molecular cell Research1763, 711-722.

**El Hajjouji H, Pinelli E, Guiresse M, Merlina G, Revel JC et Hafidi M(2007).** Assessment of the genotoxicity of olive mill waste water(OMWW) with the *Vicia faba*. Micro nucleus test Mutation research/Genetic toxicology and environmental mutagenesis634 (1-2) ,25-31.

**Emsley J (2003).** Nature building blocks : An A-Z guide to the elements. 560p, Oxford university, Oxford, UK.

**Evenari (1957).** The physiological action and biological importance of germination inhibitors. symp. soc. exp. biol11, 21-43.

**Fachmann K and Kraut ML (2006).** L'intérêt de la fève. Ed Bourde, Paris, 74pp.

**Ferrara G, Loffredo E, Senesi N(2004).** Anticlastogenic, antitoxic and sorption effects of humic substances on the mutagén maleic hydrazide teste in leguminous plants. Eur. J. soil .sci. 55(3) :449-458.

**Fletcher J(1991).** key not speech, a brief overview of plant toxicity testing in gorsuch J-W, Wang W, Lewis M-A. (ed), plants for toxicity assessment. (ed) American society for testing and materials stp 1115, Phila delphia, pp-5-11.

**Foltet AS(2010).** Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* (fabacée) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués. Thèse de doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, p245.

**Foyer CH and Noctor G(2005).** Oxidant and anti oxidant Signaling in plants a revaluation of the concept of oxidative stress a physiological context. Plant, cell and environment28, 1056-1071.

**Frausto de Silva JJ and Williams, RJP (2001).** The biological chemistry of the elements 561p, Clarendon press Oxford, UK.

**Godin PM, Feinberg MH, Ducauze CJ (1985).** Modelling of soil contamination by airborne lead and cadmium around several emission sources. Environ. pollut. 13p.

**Goldsbrough P (2000).** Métal tolérance in plants. The rôle of the phyto-chélatines and métallo-thionein in phyto-remédiation of contaminated soil and water. ED Lewis pub lisher.

**Gong P, Wilke B-M, Strozzi E, et Fleishmann S (2001).** Evaluation and refinement of a continuous seed germination and early seedling growth test for the use of the ecotoxicological assessment soils. Chemosphere 44, pp-491-500.

**Girard M-C, Walter C, Rémy J-C, Berthelin J et Morel J-L (2005).** Sols et environnement. Paris. DUNOD, 816p.

**Graham RD (1981).** Absorption of copper by plant roots in copper in soils and plants. Loneragan JF, Robson AD and Graham RD Ed. Academic press. Sydney. Australia. 141-163.

**Gutterman Y (1993).** Seed germination in desert plants adaptation of desert organisms. Berlin Springer-verlag.

**Halliwell (2006).** Réactive species and antioxidants redox biology is a fundamental theme of aerobic life plant physiology 141(2):312-322.

**Hamdy (1999).** Saline irrigation and management for a sustainable use in Advanced short course on saline irrigation proceeding. Agadir. 152-227.

**Hanschler and Mendel RR (2009).** Physiological function of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl), current opinion in plant biology 12, 259-266.

**Haq AU, Bates TE, Soony K (1980).** Comparaison of extractants for plants available. Zinc, cadmium, nickel and copper in contaminated soil. Socam J.

**Hopskins W (2003).** Physiologie végétale de Boeck université. Bruxelles.

**Hosni et Soumaya (2008).** La tolérance au sel (rapport).

**Huynh (2009).** Impacts des métaux lourds sur l'interaction plante/verre de terre/microflore tellurique, thèse de Doctorat. Université Pris Est. 169p.

**Ibrahim., Camellia K., Christian A., Kull., Thomas C., Meredith (2007).** Tropical forest transition and globalisation: neoliberalism, migration tourism, and international conservation agents, society and nature resources. 20(8):723-37.

**Iraida A, Miguel AB, Mercedes C, Maria IM, Antonio H, Ray AB, Paul MH, Miguel AQ et Victoriano V (1999).** Improved germination under osmotic stress tobacco plants over pressing a cell wall peroxidase FEBS lettres, 57-80-84.

**Jeejeebhoy KN (2007).** Human Zinc deficiency, Nutrition in clinical practice 22, 65-67.

**Kabata-Pendias A (2001).** Trace éléments in soils and plants, 3rd ED CRC press.

**Kabata-Pendias A, Pendias H (1984).** Trace éléments in soils and plant. First Edition. CRC press. Boca. Raton. Etat-unis.

**Kabata-Pendias A-Pendias H (1992).** Copper in trace éléments in soils and plants, 2nd Edition, CRC press. Boca. Raton. Etat unis. 17p.

**Kansar A., Ashraf M Y., Niaz M (2014).** Some physiological and genetic determinants of salt tolerance in sorghum (*Sorghum bicolor*. L Moench: biomass production and nitrogen metabolism. Pakistan journal of Botany 46(2):515-519

- Kanaya N, Gill BS, Grover IS, Murin A, Osiecka R, Sandhu SS, Andersson HC (1994).** *Vicia faba* chromosomal aberration assay Mutat. Res-Fundam.MOL.Mech.Mutag. 310(2) :231-247.
- Katyle JC et Randhawa NS(1986).** Les oligo-éléments-Bulletin FAO, Engrais et nutrition végétale. Organisation des Nations unies d'alimentation et l'agriculture. Rome.88p.
- Khemiri H, Belguith H, Jridit, Ben el Arbi M et Ben hamida J (2004).** Caractérisation biochimique d'une amylase active au cours du processus germinatif des graines de colza (*Brassica napus L.*). Enzymologie et métabolisme, pp-146-149.congrès international de biochimie .Marrakech.
- Klovacs M, Penksza K, Turcsanyi G(1994).** Comparative investigation of the distribution of chemical éléments in a tatarico-quercetum plant. Community and stand of cultivated plants in MARKET Ed.
- Kotowski F (1926).** Temperatures relation to germination of végétale seed.Proc.Amer.Sci.Horticult.Sci23, 176-184.
- Kramer U and Clemens S (2006).** Functions and homestasis of Zinc, copper and nickel in plants in molecular biology. Of métal. Homostasis and détoxification pp216-271.
- Krauskopf KB (1972).**In micronutrients in agriculture soil Sci. Soc of America.Madison.USA.ch :2-7-40.
- Lemiere B, Seguin JJ, Guern C, Guyoneret D, Baranger PH(2001).**Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes. Document du BRGM. Ed BRGM. Paris. France.
- Levy y et Shalhevt J (1990).**Ranking the tolérance of citrus root stocks by juice analysis sci .Horc tc, 45-89-98.
- Loneragan JF (1975).** The availability and absorption of traces elements in soil-plant systems and their relation to movement and concentrations of traces elements in plants.In « Trace éléments in soil-plant-animal-system ».Academic press London.109-134.
- Loneragan JF (1981).** Distribution and movement of copper in plants in copper in soils and plants.Eds Loneragan JF.RobsonAD and Graham RD. Academic press .19p.
- Loudes (2002).** Mise au point bio-test sur les plantes pour mettre en évidence un effet toxique ou agronomique de substance exogène (Zinc, Plomb, Substances humiques) ENSAT. rapport DEA.
- Loué A (1993).** Oligo- éléments en Agriculture. Scpa Nathan, Paris.577p.
- Macnair MR (1987).** Heavy métal tolérance in plants a model evolutionary system trends in ecology and evolution.2-254.
- Macnair MR (1990).** The genetic of metal tolerance in natural population in SHAW.
- Marcato CE(2007).**Origine, devenir et impact du cuivre et du Zinc des lisiers porcins. Rôle de la digestion anaérobie. Thèse de doctorat. INP de Toulouse.
- Marcato-Romaine C-E, Guirese M, Cecchi M, Cotelle S, Pinelli E(2009).**New direct contact approach to evaluate soil genotoxicity using the vicia faba micronucleus test.Chemosphere.77(3) :345-350.
- Marchner (1995).** Minerai nutrition of higher plantes.2<sup>nd</sup> Ed. Académie press.London.889p.
- Mengel K, Kivkby EA (1982).** Principales of plant nutrition.intern.potash.INST.Bern.655.

- Mihoub A, Chaoui A et El ferjani E (2005).** Changements biochimiques induits par le cadmium et le cuivre au cours de la germination des graines de petit pois (*Pisum Sativum L.*) CR Biologie 328, pp-33-41.
- Morel JL, Hosity C, Biton G (1995).** Assessment of bio availability of metals to plants with met plat, a microbiological test. In Van Der Brinck wj.Bossman R. Arendt F Eds contaminated soils, 95 kluver Academic publishers. Netherlands.
- Morel JL, Leyval C, Berthelin J (1994).** Influence de l'activité rhizosphérique sur la mobilité et le prélèvement des métaux lourds .Ministère de l'environnement. Convention de recherche n° 91147.
- Morel JL, Leyval C, Berthelin J (1994).** Influence de l'activité rhizosphérique sur la mobilité et le prélèvement de métaux lourds. Ministère de l'environnement. Convention de recherche n°91147.
- Morel JL (1985).** Contribution à l'étude de transfert des métaux lourds dans le système sol-plante. Le rôle des mucilages racinaires. Thèse INPL. Nancy. Metz.
- Munnr(2005).** Genes and salt tolerance :Bringing them together .New phytologist167,645-663.
- Nabil M.,Coudret A(1995).** Effects of sodium chloride on growth,tissue elasticity and solute adjustment in two *Acacia nilotica*.suspecies.Physiologia plantarum :217-224.
- Nouri (2012).** La réponse de la fève *Vicia faba* L.au stress salin. Cas d'un sol sableux amendé en bentonite (thèse de magistère).
- Paulin V (1995).** Caractérisation des éléments traces dans le sol .Etude du transfert dans une culture de maïs en champ. Mémoire de fin d'étude. ENESAD. Dijon.
- Peer WA, Baxter IR, Richards EL, Freeman JL and Murphy AS (2005).** Phytoremediation and hyper accumulation plants. In Molecular biology of metal homeostasis and detoxification (Ed Tamas,M.J and Martinoia,E) p :299-340 Heidelberg.
- Pieczonca B, Rosopulo A (1985).** Distribution of cadmium, copper and zinc in the caryopsis of wheat (*Triticum aestivum*). Fresenius Z.anal.chem.322-697-699.
- Planta SC (2001).** Molecular mechanisms of plants métal tolérance and homeostasis.
- Pourrut (2003).** Etude des profils d'expression de peroxydases chez une plante sentinelle en fonction d'un stress métal lourd ENSAT. Rapport de DEA, 34p.
- Radetski CM, Ferrari B,Cotelle S, Masfaraud JF, Ferard JF (2004).** Evaluation of genotoxic,mutagenic and oxidant stress potentiels municipal solid waste incinirator bottom ash Leachates.sci.total environ.333(1-3)209-216.
- Rahimi A, Bussler W (1974).** Kup fermengel beihoheren.pf lanzen.und.Sein histochemischer Nachweis.landw.Forschung.ch :27.101-111.
- Rengasamy P (2006).** Soil and land systems school of earth and environ metal sciences. the university of Adelaide, Waite campus, Australia.
- Reuther W, Labanauskas CK (1966).** Copper in diagnostic criteria for plants. Univ of California.USA.ch :11.157-179.
- Robert M, Juste C (1999).** Dynamique des éléments traces d'écosystème sol. In club. CRIN environnement et Ministère de l'environnement. Spéciation des métaux dans le sol. Paris. CRIN,13p.
- Robert M (1996).** Le sol interface dans l'environnement, ressource pour les développements. Masson. 244p.

- Romero–Aranda R, Moya JL, T adeo FR, Legaz F, Primo, Millo E, Talon M (1998).** Physiological and anatomical disturbances induced by chloride salts in sensitive and tolérante citrus :benifical and detrimental effects of cation. *plant cell environ* 21,p-1243-1253.
- Ross M (1995).** Toxic métal in soil-plants system. villey. Chichester. Angleterre.
- Rozema J (1975).** The influence of salinity inundation and temperature of the germination of some halophyts and non halophyts . *Oecol Plant* 10, pp-341-354.
- Sang N, Li G (2004).** Genotoxicity of municipal landfill. Leachate on root tips of *Vicia faba*. *Mutat. Res-Genet.Toxicol.Environ. Mutag.*560(2) :159-165.
- Sauchelli V (1969).** Trace elements in agriculture. Van Nostrand Rein hold cie Ed.248p.
- Sauvé S,Murray B, Bridea MC,William H,Hendershoth(1997).**Spéciation of lead in contaminated soils. *Environmental pollution* :149-155.
- Schulte EE, Kelling KA (1999).** Soil land applied copper unders tanding plant nutrients n°A2527.
- Servant JM (1976).** La salinité dans le sol et les eaux. Caractérisations et problèmes d'irrigation drainage. SES n°370 Montpellier, 27p.
- Shilpi M, Narendra T (2005).**Minireview: cold,salinity and droutht stresses an overview. *Arch biochem, biophys* 444:139-158.
- Slama AD, Afifi WM, Mousa AZ et Shams el Din (1992).** Biochemical study on the effet of salinity on cucumber .Seed lings.*Annals Agric.sci Ain Shams univ. Cairo*, 37-339-349.
- Smith RD JAC (1998).** Metals hyper accumulator plants. A review of Baker AJM, MC Grath SP. Reeves of the ecology and physiology of biological resource for phytoremediation. Ann Arbor press MI.
- Sommer AL and Lipman CB (1926).** Evidence on the indispensable nature of zinc and boron for higher green plant physiology1, 231-249.
- Stevenson FG et Fitch A (1981).** Reaction with organic matter in JF. Loreragan AD, Robson and RD. Graham Eds. copper in soils and plants, proceeding of the golden jubilee international symposium on «copper in soils and plants». Murdoch university. Perth. Académie press. Sydney.69-95.
- Tiffin LO (1972).** In micronutrients in agriculture «soil,Sci,Soc.of America Madison,USA.ch :9.199-229.
- Tob K, Zhang L, Yu oi u G, Shimizu H et Omasa K (2001).** Characteristics of seeds germination in five –non- halophytic chinese desert shruf species. *J .of arid envir* ,47-191-201.
- Tremel-Schaub A, Feix I (2005).**Contamination des sols ,transferts des sols vers les plantes .EDPscience.22-23p.
- Trocmé S (1970).** *Ann. Agron* -519-548.21.
- Van-der-Zool BJ, Neuteboom LW, Pinas J E, Chardonneur AN, Schat H, Verkleij JAC and Hooykaas Pjj (1999).** Ovrex pression of a novel Arabidopsis gene related to putative Zinc- trasporteur. Gens from animal scan lead to En Hanced Zinc resistance and accumulation *plant physiology*119, 1047-1056.
- Wang D-F, Gao Cand Chen FR (2007).** Characteristics of zinc distribution in soil-rape système in the vicinity of tongling. Mining aera china. *Journal of agro-Environnement science*26, 1347-1351.
- West DW et François LE (1982).** Effects of salinity on germination growth and yield of cowpea. *Irrig sci* 3, pp-169-175.

**Workalemahu A(2009).**Effet des peuples autochtones et nodulating bacteris root sur la nodulation et la croissance de la fève *Vicia faba* dans le faible niveau d'intrants des systèmes agricoles du Tigré Highlands. Nord de l'Ethiopie.

**Zid et Grignon (1976).** Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydrique. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. AUPELF-UREF. Jon libbey Eurotext, Paris.91-108.