

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عبد الحميد بن باديس \_ Mostaganem

مستغانم

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

قسم البيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du :

**Diplôme de Master**

**Option**

«Phytotechnologie appliquée aux sols pollués »

**Présenté par :**

**CHERIEF Imane**

**AMRANE Fatiha**

**Intitulé :**

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

Laboratoire de biodiversité et conservation des eaux et des sols, université de Mostaganem.

Soutenue devant le jury:

Nom et prénom	Grade	Qualité	Appartenance administrative
BESSAFI Laïd	MAA	Président	U. Ibn Badis Mostaganem
BENOUIS Slimane	MAA	Encadreur	Centre de recherches scientifiques et techniques sur les régions Arides de Biskra
NOURI Tayeb	MAA	Examineur	Centre Universitaire de Naama

## *Remerciements*

---

*Je souhaite remercier toutes les personnes qui m'ont permis de mener à bien ce modeste travail. Tout d'abord, Mr REGUIEG YSSAAD Houcine Abdelhakim Professeur à l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem et responsable de la poste graduation de la promotion de phytotechnologie appliquée aux sols pollués.*

*Nous remercions vivement notre encadreur Mr. BENOUIS Slimane, qu'a accepté de nous encadrer. Nous remercions infiniment pour son aide, ses orientations, sa patience et sa correction sérieuse de ce modeste travail.*

*Ce fut un plaisir d'expérimenter et d'apprendre par ses intuitions et ses connaissances scientifiques. Je lui exprime ma profonde gratitude pour l'aide qu'il m'a fournie pour la réalisation de ce travail, qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.*

*Ce mémoire a été réalisé au laboratoire de la biodiversité et conservation des eaux et des sols, université de Mostaganem. Je souhaite le remercier ici pour l'accueil qu'il a porté à ce travail, pour sa disponibilité, ses orientations, ses remarques fructueuses et d'avoir eu l'amabilité d'accepter d'être membre jury de ce travail. Qu'il trouve ici ma profonde gratitude.*

*Mes remerciements s'adressent aussi vivement à tous les membres du jury qui ont accepté d'évaluer mon travail.*

*Mr BESSAFI Laïd maître assistant à l'université de Mostaganem*

*Mr NOURI Tayeb maître assistant à l'université de Naama*

*Nous adressons notre sincère reconnaissance à tout le personnel de la ferme de Mazagran. Nous tenons à remercier Mr. le directeur du laboratoire avec toutes ces équipes de l'université de Mostaganem, Sans oublier tous les enseignants qui ont participé à notre formation.*

*Je tiens à remercier tous les étudiants de Master 2015-2016 phytotechnologie appliquée au sol pollué surtout BENHAMOU Asma.*

*Enfin, qu'il me soit permis de remercier très sincèrement toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers parents qui ont largement  
contribué à mon éducation et mon enseignement.*

*mon frère : Houcine*

*mon marié : Kamel.*

*A toutes les familles : Cherief et Belmadi.*

*A toutes mes amies sans exception.*

*Enfin à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de  
loin.*

*« Imane »*

## -∞\* TABLE DES MATIERES \*∞-

Liste d'abréviation	
Liste des tableaux	
Liste de figures	
Introduction .....	1
Chapitre I : Revues Bibliographiques.....	3
I-Généralité sur les métaux lourds.....	3
I-1- Définition des « métaux lourds ».....	3
I-2 Origine de la contamination des sols par les métaux lourds .....	4
I-2-1- Origines naturelles .....	5
I-2-2-origine anthropique .....	6
<b>II-Généralité sur le cuivre</b> .....	6
<b>II-1 Définition du cuivre</b> .....	6
II-2 Historique sur le cuivre .....	7
II-3 Le cuivre dans le sol.....	7
II-3-1 Sources de cuivre dans les sols .....	7
II-3-2 Formes chimiques du Cu dans le sol.....	8
II-3-3 Biodisponibilité du cuivre .....	9
II-3-4 La mobilité du cuivre dans le sol .....	9
II-4 Le cuivre dans la plante.....	9
II-4-1 Le cuivre, un oligo-élément pour les plantes .....	10
II-4-2 Concentration du cuivre dans les tissus des végétaux.....	10
II-4-3 Les symptômes visuels de déficience en cuivre.....	10
II-4-4 Teneurs en cuivre dans la plante .....	11
II-4-5 Absorption du cuivre.....	11
II-4-6 Translocation du cuivre.....	12
II-4-7 Distribution dans la plante .....	13
II-4-8 Rôle physiologique du cuivre dans la plante.....	14
II-4-9 Le cuivre, élément phytotoxique.....	15
II-4-9-1 Mécanismes de toxicité de cuivre .....	15
II-4-9-2 Rhizotoxicité.....	16
II-4-9-3 Phytotoxicité au niveau des parties aériennes.....	16
II-4-9-4 Effet du cuivre sur l'activité photosynthétique :.....	17
II-4-10 Les mécanismes de tolérance chez les végétaux .....	17
II-4-10-1 La chélation de Cuivre .....	17

II-4-10-2 La séquestration de cuivre .....	18
III- Le modèle biologique <i>Vicia faba</i> .....	18
III-1-la plante.....	18
III-1-1. Classification .....	18
III-1-2 Description.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
a- Les racines .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
b- La tige.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
c- Les feuilles .....	20
d- Les fleurs .....	20
e- Les fruits.....	20
f- Les graines.....	21
III-2 Cycle biologique .....	21
III-3 Culture.....	22
III-4 Cariotype et cycle cellulaire.....	22
III-5 Intérêt en écotoxicologie .....	22
Chapitre II : Matériels et Méthodes.....	24
1. Introduction .....	24
2. Matériels végétal utilisé.....	24
4. Conduite de l'essai .....	25
4.1. Application du stress métallique .....	27
5. Les paramètres mesurés.....	27
5.1. La teneur relative en eau.....	27
5.2. Dosage des pigments chlorophylliens .....	28
5.3. Dosage du proline.....	28
5.4. Calcule le poids sec de la partie aérienne et racinaire .....	28
6. Analyse statistique.....	29
Chapitre III : Résultats et Interprétations .....	31
1. Effet du cuivre sur les taux des pigments photosynthétiques.....	31
1.1. Chlorophylle a .....	31
1.2. Chlorophylle b.....	32
Discussion .....	34
2. Effet du cuivre sur la teneur relative en eau (RWC) .....	34
Discussion .....	36
3. Effet du cuivre sur la teneur en Proline .....	36

Discussion .....	37
4. Effet du cuivre sur le poids sec des racines .....	38
5. Effet du cuivre sur le poids sec de la partie aérienne .....	39
Discussion .....	41
Conclusion.....	42

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

## **Résumé**

–∞\* LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES \*∞–

% : pourcent

°C : degré celsius

A470 : absorbance à 470 nm.

A645 : absorbance à 645 nm.

A663 : absorbance à 663 nm.

ADN : adénosine désoxyribose nucléique.

Chlr.a : chlorophylle a.

Chlr.a+b : chlorophylle a+b.

Chlr.b : chlorophylle b.

Cm : centimètre.

CNCCSP : Centre National de Contrôle et de Certification des Semences et Plantes

COPT : Copper Transporter

CTR : Conserved Copper Transporter

Cu : Cuivre

D.0 : dose témoin.

D.1 : dose une.

D.2 : dose deux.

D.3 : dose trois.

D4 : dose quatre

D5 : dose cinq

FPGN : fond pédo-géochimique naturel.

g : gramme.

g.ha<sup>-1</sup> : gramme par hectare

$\text{g.mol}^{-1}$  : gramme par mol

$\text{g/cm}^{-3}$  : gramme par centimètre cube

$\text{g/kg}$  : gramme par kilogramme

h : heure.

JC : Jésus Christ.

m : mètre

$\text{mg.kg}^{-1}$  : milligramme par kilogramme

$\text{mg/g}$  : milligramme par gramme.

mm : millimètre.

MO : matière organique.

MT = Metallothionéines

p : probabilité.

PC : phytochélatines.

pH : potentiel hydrogène.

Pi : poids initial

ppm, p.p.m : partie par million

ps : poids sec.

RWC : relative water content, contenu relatif en eau

$\text{S.m}^{-1}$  : siemens par mètre

-SH : groupement thiol (ou sulfhydrile).

T° : Température

U.S.D.A : United States Department of Agriculture.

$\text{W.m}^{-1}\text{K}^{-1}$  : watt par mètre-kelvin

$\mu\text{M}$  : micromètre

- ❧\* LISTE DES TABLEAUX \* ❧ -

<b>Tableau N°01</b> ; Classification périodique des éléments .....	04
<b>Tableau N°02</b> : Concentration de quelques éléments traces dans les roches ignées et les roches sédimentaires(mg/kg).....	05
<b>Tableau N°03</b> : Principales propriétés physico-chimiques du cuivre aux conditions de pression et température ordinaires.....	07
<b>Tableau N°04</b> : Prélèvements de Cu par différentes cultures.....	13
<b>Tableau N°05</b> : Propriétés du substrat.....	25
<b>Tableau N°06</b> : Composition chimique de la solution nutritive.....	27
<b>Tableau N°07</b> : Probabilité « <i>p</i> » de l'analyse de la variance des paramètres physiologiques de la variété étudiée.....	31
<b>Tableau N°08</b> : Les teneurs en Chlorophylle a en mg/g des feuilles de la fève exposés au cuivre.....	32
<b>Tableau N°09</b> : Les teneurs en Chlorophylle b en mg/g des feuilles de la fève exposés au cuivre.....	33
<b>Tableau N°10</b> : Les teneurs relatives en eau (%) des feuilles de la fève exposés au cuivre.....	35
<b>Tableau N°11</b> : Les teneurs en proline ( $\mu\text{g/g}$ ) des feuilles de la fève exposés au cuivre.....	7
<b>Tableau N°12</b> : Le poids sec d la partie racinaire en g de la fève exposés au cuivre.....	39
<b>Tableau N°13</b> : Le poids sec d la partie aérienne en g de la fève exposés au cuivre.....	40

- ❧\* LISTE DES FIGURES \* ❧ -

<b>Figure N°1</b> : Origine des métaux lourds dans le sol .....	05
<b>Figure N°2</b> : Coupe d'une racine.....	12
<b>Figure N°3</b> : Les différentes parties de la fève <i>Vicia faba</i> L.....	21
<b>Figure N°4</b> : La serre en verre de Mezaghran.....	24
<b>Figure N°5</b> : Schéma de dispositif expérimental adopté.....	26
<b>Figure N°6</b> : Dispositif expérimental.....	26
<b>Figure N°7</b> : Protocole expérimental.....	30
<b>Figure N° 08</b> : L'évolution des moyennes des teneurs en chlorophylle a (mg/g) en fonction de la dose du cuivre.....	32
<b>Figure N° 09</b> : L'évolution des moyennes des teneurs en chlorophylle b (mg/g) en fonction de la dose du cuivre.....	33
<b>Figure N° 10</b> : L'évolution des moyennes de la teneur relative en eau (%) en fonction de la dose du cuivre.....	35
<b>Figure N° 11</b> : L'évolution des moyennes de la teneur relative en eau (%) en fonction de la dose du cuivre.....	35
<b>Figure N° 12</b> : L'évolution de la teneur en proline (µg/g) des deux génotypes expérimentés en fonction de la dose du cuivre.....	37
<b>Figure N° 13</b> : L'évolution des moyennes du Poids sec de la partie racinaire en (g) en fonction de la dose du cuivre.....	39

# Introduction

## Introduction

Les activités anthropiques, industrielles et agricoles, peuvent être à l'origine d'une accumulation de métaux dans l'environnement et en particulier dans les sols. L'apport des métaux au sol se fait généralement soit par retombées atmosphériques, soit par l'application directe au sol, ou indirecte via la végétation, de matériaux (fertilisants, phytosanitaires, amendements organiques, boues de station d'épuration notamment) concentrés en métaux (Adriano 2001). La contamination des sols par les métaux peut avoir deux conséquences majeures. D'une part, elle peut favoriser la dispersion des métaux dans l'environnement vers les eaux de surface par érosion, vers les eaux souterraines et les nappes par lixiviation-lessivage et, enfin, par transferts dans la chaîne alimentaire par l'intermédiaire des animaux et plus encore des végétaux (Adriano 2001). D'autre part, la contamination des sols par les métaux peut affecter les différentes fonctions du sol, celles contribuant aux services écosystémiques, et en particulier sa fonction de production en zones agricoles.

Dans le domaine agricole la plupart des métaux lourds accumulés dans le sol sont absorbés par les plantes. En effet, les végétaux ont besoin pour leur croissance et leur développement de certains ions métalliques comme par exemple le cuivre, qui entre dans la composition de certaines enzymes ou servent de co-facteurs (Yang et al., 2005). Cet élément, nécessaire en faible quantité, s'avère cependant toxique, voire létal lorsqu'il est présent en forte concentration (Hänsch et Mendel, 2009). L'accumulation des métaux lourds dans les sols génère donc des pertes de rendement conséquentes soit parce que les plantes cultivées se développent moins bien, soit parce que les sols restent inoccupés car impropres à la culture.

Pour des plantes poussant sur des sols contenant une concentration en Cu total naturellement faible, ou présence de Cu peu mobil, comme les sols calcaires et les sols riches en matière organique dans lesquels le cuivre est fortement complexé aux substances organiques, la fourniture de Cu peut être insuffisante. Lorsqu'une plante ne dispose pas, à portée de ses racines, d'une quantité suffisante de Cu assimilable, sa matière sèche en devient moins bien pourvue donc sa croissance est sévèrement réduite et des symptômes de déficiences peuvent se manifester. (*Chaignon, 2001*)

Lorsque la teneur en Cu augmente dans le sol, la teneur en Cu observée dans la plante peut atteindre une concentration critique, variable selon l'espèce végétale, à partir de laquelle apparaissent des symptômes de phytotoxicité.

Chez la plante, la phytotoxicité peut s'exprimer au niveau racinaire (rhizotoxicité) et/ou au niveau des parties aériennes et se caractérise par des réponses moléculaire, métabolique et/ou à différents niveaux d'organisation de la plante entière.

C'est dans ce contexte que se situe le présent travail dont l'objectif majeur est d'analyser le comportement de la fève (*vicia faba* L.) face au stress métallique, induit par le cuivre. Les plantes de la fève sont cultivées dans substrat constitué d'un sol contaminé artificiellement par des doses croissantes de cuivre, cette contamination se déroule tout au long de cycle végétatif de la fève. L'estimation de la réponse physiologique de ce modèle biologique (fève) se fait par l'évaluation de quelques paramètres physiologiques comme par exemple l'activité photosynthétique et la biomasse de la plante.

# Chapitre I :

# Revue Bibliographique

## I-Généralité sur les métaux lourds

Actuellement, dans l'environnement une importante gamme de contaminants existe, tels que les métaux lourds, les substances combustibles, les déchets dangereux, les explosifs et les produits pétroliers. Ils se divisent en deux catégories : les composés organiques et inorganiques. Les contaminants inorganiques majeurs sont les métaux lourds. Ils représentent un problème différent des contaminants organiques : contrairement à ces derniers, ils ne peuvent pas être dégradés par les microorganismes, ils doivent être « immobilisés » ou extraits.

Certains métaux ne sont pas nécessaires à la vie, mais ils perturbent souvent le cours normal des processus métaboliques, même à l'état de traces à l'exception de faibles doses tolérables (Claus *et al.*, 2004). D'autres éléments métalliques ou oligo-éléments (Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, Ni), présents à l'état de traces, sont essentiels pour l'organisme, l'accroissement de leur concentration peut représenter un danger pour les organismes vivants. (Marschner, 1995).

### I-1- Définition des « métaux lourds »

D'un point de vue purement scientifique et technique, les métaux lourds peuvent être définis comme :

- tout métal ayant une densité supérieure à 5 g/cm<sup>3</sup>,
- tout métal ayant un numéro atomique élevé, en général supérieur à celui du Sodium (Z=11), (Adriano, 2001) (Tableau N<sup>01</sup>).

D'un autre point de vue biologique, on en distingue deux types en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques : métaux essentiels et métaux toxiques.

**a-** Les métaux essentiels sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques (Loué, 1993). Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du fer (Fe).

**b-** Les métaux toxiques ont un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg), du cadmium (Cd).

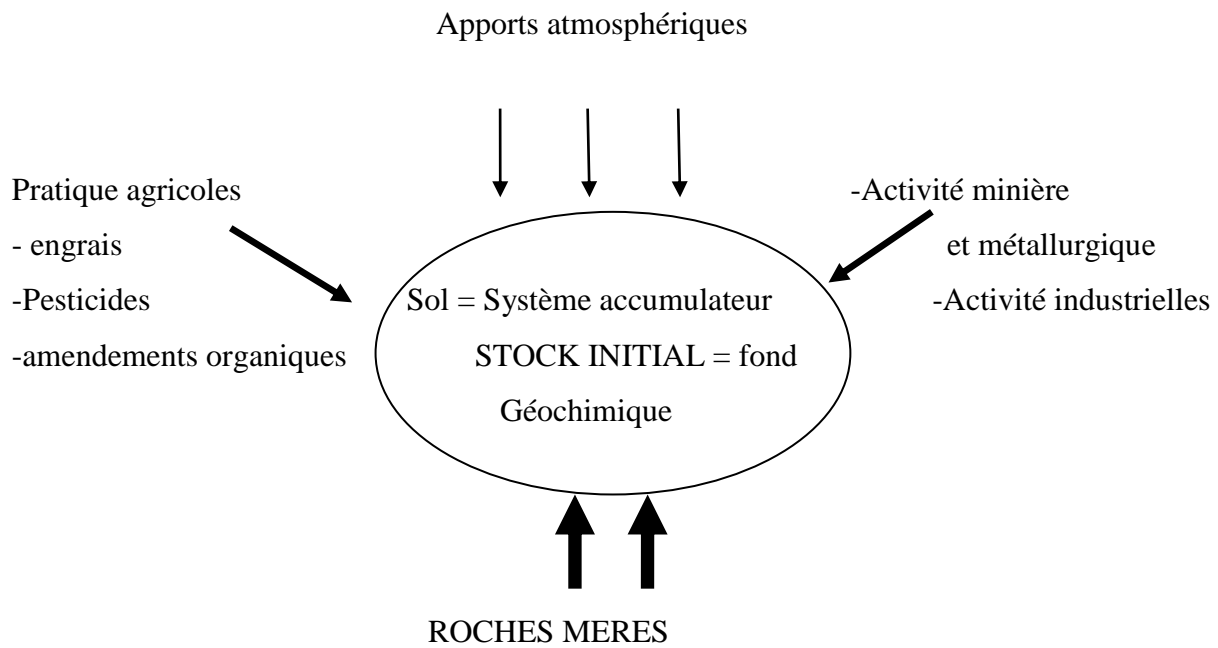
Le terme métaux lourds, implique aussi une notion de toxicité. Le terme « éléments traces métalliques » (ETM) est aussi utilisé pour décrire ces mêmes éléments, car ils se retrouvent souvent en très faible quantité dans l’environnement (Baker et Walker, 1990).

Tableau N°01 : Classification périodique des éléments minéraux (Dung Huynh, 2009).

Tableau périodique des éléments minéraux. Le tableau est coloré par groupes et les éléments Cu, Ag, et Cd sont encerclés en rouge. Des légendes et des schémas de classification sont incluses.

I-2 Origine de la contamination des sols par les métaux lourds

Le problème principal avec les métaux lourds comme le plomb, le cadmium, le cuivre et le mercure est qu’ils ne peuvent pas être biodégradés, et donc persistent pendant de longues périodes dans des sols. Leur présence dans les sols peut être naturelle ou anthropogénique (Figure N°01).



**Figure N°01 :** Origine des métaux lourds dans le sol (Robert et Juste, 1999).

**I-2-1- Origines naturelles**

Le fond pédo-géochimique naturel (FPGN) d'un sol est la concentration naturelle d'une substance dans un horizon de sol, résultant uniquement de l'évolution géologique et pédologique, à l'exclusion de tout apport d'origine anthropique. D'un point à un autre d'un territoire, ce FPGN peut varier très largement, en fonction de la nature du matériau parental (héritage) et du type de sol qui s'y est développé (Baize, 1997).

**Tableau N°02 :** Concentration de quelques éléments traces dans les roches ignées et les roches sédimentaires (mg/kg) (Thornton, 1981)

Elément	Basaltes	Granites	Schistes et argiles	Roches calcaires	Roches sableuses
<b>Cu</b>	30-160	4-30	18-120	4	2
<b>Zn</b>	48-240	5-140	18-180	20	2- 41
<b>Mo</b>	0.9-7	1- 6	2.5	0.4	0.2

### I-2-2-Origine anthropique

Les teneurs les plus élevées en éléments inorganiques rencontrées dans les sols sont fortement liées à l'activité humaine.

Les principales activités sont les suivantes:

- ❖ Pratiques agricoles dues aux épandages d'insecticides, de fongicides, d'engrais, de boues résiduaires urbaines ou de composts d'ordures ménagères,...etc.
- ❖ Pollution dues aux retombées atmosphériques telle que l'industrie extractive et métallurgique, pratiques liées à l'incération, utilisation des énergies fossiles, essence au plomb, etc.

Stockage de déchets urbains ou industriels dues aux résidus des activités de mines et de fonderies de métaux, installations de stockage de déchets,...etc.(Abderrazzak ,2012)

## II-Généralité sur le cuivre

### II-1 Définition du cuivre

Il tire son nom du latin *Cyprium aes* qui a pour traduction 'le métal de Chypre', principal producteur dans l'antiquité. Son symbole chimique, Cu, provient de son nom latin.

Le cuivre, est un élément du groupe IB du tableau périodique, de masse atomique 63,546 g/mol. Les oligo-éléments comme Cu, sont des éléments indispensables à la vie mais qui se trouvent présents en proportion très faibles dans les tissus biologiques (Loué, 1993).

Les deux isotopes naturels sont le  $^{63}\text{Cu}$  (69%) et le  $^{65}\text{Cu}$  (31%) (Emsley, 2003). A l'état métallique ( $\text{Cu}^0$ ), il a une couleur rouge orangée, sa structure cristalline est cubique face centrée de paramètre de maille  $a=3,61 \text{ \AA}$  et de densité  $8,9 \text{ g.cm}^{-3}$ . Sa densité supérieure à  $5 \text{ g.cm}^{-3}$  le classe dans la famille des métaux lourds (Flemming et Trevors, 1989). Sa configuration électronique est  $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^1$ . Suivant la règle classique de remplissage des orbitales atomiques (règle de Klechkowski), la configuration devrait être  $3d^9 4s^2$ . Mais la configuration électronique de type  $s^1 d^{10}$  est énergétiquement plus favorable que la configuration  $s^2 d^9$ . Du fait de la capacité des électrons de la sous couche d à se délocaliser dans le réseau métallique, ses températures de fusion et de vaporisation sont élevées (Tableau N°3). Les formes les plus courantes à l'état naturel étant sont les ions cupriques  $\text{Cu}^{2+}$  ( $3d^9$ ) et cupreux  $\text{Cu}^+$  ( $3d^{10}$ ). (Lenoir,2011)

**Tableau N°3** : Principales propriétés physico-chimiques du cuivre aux conditions de pression et température ordinaires. (Lenoir, 2011)

N° atomique	29
Masse molaire	63,5 g.mol <sup>-1</sup>
Densité	8,9 g.cm <sup>-3</sup>
T° de fusion	1084°C
T° de vaporisation	2567°C
Conductivité électrique	59,6 10 <sup>5</sup> S.m <sup>-1</sup>
Conductivité thermique	401 W.m <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>

## II-2 Historique sur le cuivre

Le cuivre est un métal utilisé depuis la préhistoire. Il y a plus de 10000 ans, il était déjà exploité dans le nord de l'Irak, probablement à partir de pépites de cuivre natif. Les premiers objets en cuivre remontent à plus de 6000 ans. Il était utilisé pour la fabrication d'armes, d'outils et de bijoux. L'extraction du cuivre sous forme de minerai a commencé 5000 ans avant JC (Emsley, 2003). Plus tard, il a été découvert qu'associé à l'étain il formait un alliage beaucoup moins malléable et qui pouvait être affilé. Le bronze était né. L'Age du Bronze s'étend d'environ 3000 à 1000 avant JC (Zoltán et al, 2009). Dans l'antiquité, le cuivre a commencé à être utilisé pour ses propriétés colorantes et fongiques : les civilisations grecques et romaines se servaient du vert de gris (acétate de cuivre) comme pigment et comme médicament. Au moyen âge, l'excellente conductivité thermique du cuivre métallique était utilisée dans les casseroles et bouilloires, puis dans l'imprimerie comme plaques de gravures. Plus tard, il a été utilisé pour gainer les coques des bateaux en bois pour empêcher la fixation des crustacés (Emsley, 2003).

## II-3 Le cuivre dans le sol

### II-3-1 Sources de cuivre dans les sols

Le cuivre est naturellement présent dans les roches et les sols : les sols développés sur des roches d'origine sédimentaire contiennent plus de cuivre que les sols développés sur des roches de type schistes ou granites (Fernandez-Calvino et al., 2008), les roches les plus

concentrées en cuivre sont les roches d'origine volcanique (Kabata-Pendias, 2010). Les minéraux cupriques viennent soit de la roche parentale soit se forment lors de processus pédologiques par substitution à d'autres cations métalliques ou par co-précipitation avec des carbonates magnésiens ou calciques, ou encore avec des oxydes de fer, de manganèse et d'aluminium (Cetoi et al., 2003). Ainsi, suivant la concentration initiale de la roche mère et en fonction des processus pédogéochimiques, le fond pédogéochimique en cuivre des sols va varier. Les concentrations actuelles de cuivre dans des sols sont le résultat de l'accumulation de différentes sources. Ainsi, les retombées atmosphériques qui se déposent sur les sols peuvent avoir des origines naturelles telles que l'érosion éolienne, les éruptions volcaniques, les sels marins et les feux de forêts ou des origines anthropiques comme les activités industrielles, minières, agricoles et l'incinération de déchets (Bourrelier et Berthelin, 1998).

### II-3-2 Formes chimiques du Cu dans le sol

Dans les sols non contaminés, les concentrations en Cu sont de l'ordre de 2 à 250 mg/kg avec une moyenne de 30 mg/kg, dans les sédiments d'eaux douces elles varient typiquement de 16 à 5000 mg/kg et dans les sédiments marins de 2 à 740 mg/kg. Les sols étant constitués en grande majorité de matière organique, d'argiles (phyllosilicates), d'oxydes et hydroxydes de fer et de manganèse, qui tous possèdent des sites réactionnels donneurs d'électrons, comme les groupements  $\text{COO}^-$ ,  $\text{OH}^-$ , capables de créer des liaisons fortes avec l'ion  $\text{Cu}^{2+}$  en comblant la lacune électronique dans la couche d<sub>9</sub>. Le cuivre peut s'associer préférentiellement aux oxydes de manganèse et à la matière organique, comme le suggère la dépendance en PH des isothermes d'adsorption de Cu sur chacune de ces phases. Cependant, si le sol est argileux ou argilo-limoneux et pauvre en MO, la majorité du cuivre pourra très bien être fixée sur les argiles en raison de leur abondance. (Lenoir, 2011)

Le facteur sol important pour le Cu est le taux de matière organique et sa composition (son état de dégradation par exemple). En effet, le Cu a une très forte affinité pour les matières organiques et a tendance à former avec elles des complexes solubles (avec les acides fulviques par exemple) ou insolubles (avec les acides humiques par exemple). Bien que la matière organique contribue généralement à l'immobilité du Cu en formant de fortes liaisons, elle peut aussi augmenter la solubilité du Cu par la formation de composés solubles. Le Cu a un minimum de solubilité entre pH 6 et 8. Aux pH inférieurs à 6, il est majoritairement sous forme  $\text{Cu}^{2+}$ , et au-dessus de 8 sous forme complexée avec la matière organique soluble. La concentration en solution de Cu augmente fortement pour des pH < 4-5. (Navel, 2011)

### II-3-3 Biodisponibilité du cuivre

La biodisponibilité de Cu dans les sols est simplement définie comme la potentialité de Cu à être absorbé par une plante. Pour un système sol - plante, la biodisponibilité de Cu est l'aptitude de Cu à être transféré d'un compartiment du sol vers le système racinaire de la plante, lieu de son prélèvement. Ce transfert s'effectue essentiellement par l'intermédiaire de l'absorption de Cu contenu dans la solution du sol par les racines (Loué, 1993; Marschner, 1995). La biodisponibilité de Cu dépend donc de la spéciation, de toutes les propriétés physico-chimiques qui gouvernent la spéciation, et par conséquent la mobilité de Cu dans le sol, mais aussi de l'espèce végétale considérée (Ebbs et *al.*, 1997).

### II-3-4 La mobilité du cuivre dans le sol

Dans les sols, la fraction mobile ou aisément mobilisable du cuivre est souvent très faible. Sa biodisponibilité dépend étroitement des propriétés physicochimiques (pH), de la granulométrie et de la composition desdits sols. Un pH acide favorise sa mobilité et sa biodisponibilité. De plus, l'absorption est d'autant plus importante que la CEC du sol diminue. La biodisponibilité des ions  $\text{Cu}^{2+}$  est limitée par sa fixation sur les acides humiques et sa complexation avec les oxydes de fer et de manganèse. La présence de calcium dans les sols freinerait également l'absorption des ions cuivre par les végétaux. (Navel, 2011)

Les argiles sont également des phases fixatrices de métaux, mais elles peuvent ainsi permettre leur dissémination de par leur petite taille qui leur permet d'être aisément transportées par le vent. Ceci est particulièrement vrai dans le cas du cuivre (Navel, 2011).

### II-4 Le cuivre dans la plante

Toutes les plantes prélèvent dans le sol des quantités plus ou moins importantes d'éléments minéraux qui sont généralement classés en deux groupes : macroéléments et microéléments ou oligo-éléments.

Les oligo-éléments jouent un rôle important dans la vie des plantes et en particulier dans la production végétale, leur rôle se différencie globalement de celui des éléments majeurs, il s'agit d'une fonction catalytique et non d'un rôle plastique, c'est d'ailleurs ce qui explique leurs hautes efficacités et leurs caractères indispensables malgré les besoins très minimes.

### II-4-1 Le cuivre, un oligo-élément pour les plantes

Le cuivre est un des 7 oligo-éléments (Zn, Mn, Fe, B, Mo, Cl), indispensable à faible dose aux plantes. Au niveau du métabolisme de la plante, suivant son état d'oxydation, le cuivre joue un rôle important dans de multiples systèmes enzymatiques tels que la photosynthèse, la respiration, l'alimentation, la fertilité ou la détoxification.

Le cuivre est un des constituants de protéines impliquées dans la photosynthèse comme les plastocyanines des chloroplastes. Son rôle de cofacteur dans le transport d'électrons du photosystème II est également primordial (Marschner, 1995). Il intervient dans la constitution de protéines engagées dans le processus de la respiration mitochondriale (cytochrome oxydase), des réactions d'oxydation de l'acide ascorbique (ascorbate oxydase) et de la détoxification de radicaux superoxydes (superoxyde dismutase) mais aussi de la synthèse de lignine de la paroi cellulaire (peroxydases et phénols oxydases), (Loué, 1993 ; Marschner, 1995 ; Clemens, 2001). Le cuivre intervient dans le métabolisme et la distribution des hydrates de carbone, des lipides, de la réduction et de la fixation de l'azote (Marschner, 1995). Il intervient dans le contrôle hydrique en influençant la perméabilité à l'eau des vaisseaux xylèmes (Kabata Pendias, 2010). Il est intéressant de noter que le cuivre joue également un rôle dans le processus de coloration en jaune des fleurs et la production de graines (Nakayama et al., 2000).

### II-4-2 Concentration du cuivre dans les tissus des végétaux

Les oligoéléments ne sont requis qu'en très faible quantité et les teneurs adéquates de Cu dans les parties aériennes s'élèvent à 5-20 mg kg<sup>-1</sup> de matière sèche suivant le stade de développement et l'espèce considérés. Au-delà du seuil de toxicité de 15-30 mg kg<sup>-1</sup> dans les parties aériennes, Cu peut être phytotoxique (Marschner 1995 ; Reuter et Robinson 1997).

### II-4-3 Les symptômes visuels de déficience en cuivre

Les symptômes visuels de déficience en cuivre sont difficiles à détecter car ils ne sont pas typiques et peuvent être confondus avec d'autres (Loué, 1993). Les jeunes organes aériens plus sensibles, sont les premiers à développer des symptômes de déficience en cuivre (Kabata Pendias, 2010). Les principaux symptômes macroscopiques sont une altération du développement des pollens, des troubles de l'épiaison sur céréales, une décoloration blanches du bout des jeunes feuilles (Loué, 1993), un défaut de turgescence des feuilles lorsque les vaisseaux du xylème sont insuffisamment lignifiés (Kabata Pendias, 2010). En outre, en cas

de carence en cuivre, on observe une augmentation de l'absorption de manganèse pouvant entraîner une toxicité à ce métal. Enfin dans les cas de déficiences en cuivre les plus graves, la mort des jeunes pousses survient tandis que les arbres se rabougrissent (Loué, 1993). Le diagnostic d'une déficience en cuivre est confirmé lorsque la teneur en cuivre de jeunes feuilles est inférieure à 4 mg/kg (Loué, 1993).

#### II-4-4 Teneurs en cuivre dans la plante

De nombreuses études ont été réalisées en hydroponie et *in situ* afin de déterminer les seuils de biodisponibilité environnementale et toxicologique. Or, ces seuils sont extrêmement variables d'une espèce végétale à l'autre et en fonction des conditions expérimentales. La mesure de la teneur en cuivre dans la plante permet de connaître à la fois ses capacités d'absorption, de stockage et d'homéostasie, c'est pourquoi elle est souvent utilisée en complément de l'observation des symptômes.

La plupart des plantes ont des teneurs en cuivre dans les racines plus élevées que dans les parties aériennes car elles stockent préférentiellement le cuivre dans les racines afin de limiter sa translocation vers les parties aériennes du fait du stress oxydatif qu'il peut y engendrer. Les valeurs seuils de toxicité pour les racines sont donc différentes des valeurs seuils de toxicité pour les parties aériennes. (Anatol, 2014)

#### II-4-5 Absorption du cuivre

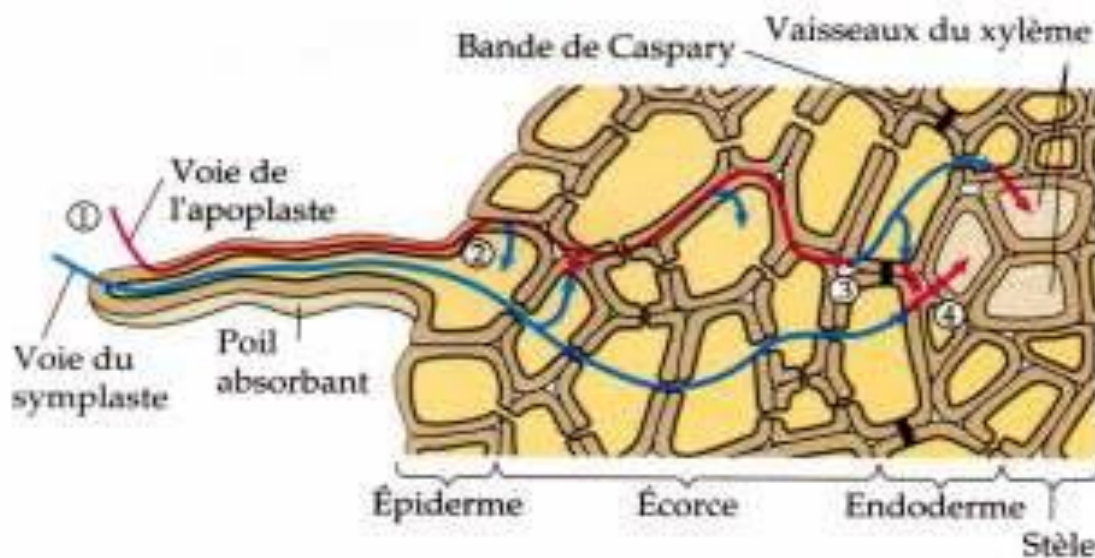
Bien que Cu soit majoritairement présent sous forme complexée par des exsudats racinaires ou des ligands organiques du sol dans l'environnement racinaire (Graham, 1981), la forme libre semble être la seule absorbée par les racines conformément à la théorie de l'ion libre (Adriano 2001). Cependant, des travaux suggèrent que Cu complexé par des ligands organiques (anions organiques, phytosidérophores) pourrait être prélevé directement sans dissociation préalable du complexe formé avec ces ligands (Xuan et al. 2006).

L'absorption de Cu à l'intérieur des cellules racinaires semble néanmoins dépendre de transporteurs spécifiques de la membrane plasmique présentant une haute affinité pour Cu<sup>+</sup>, les transporteurs COPT (Copper Transporter) (Puig et al, 2007). Ces transporteurs appartiennent à la famille CTR (Conserved Copper Transporter) qui est impliquée dans le transport de Cu de l'extérieur vers le cytoplasme de cellules eucaryotes (e.g. levures, mammifères). Des travaux tendent d'ailleurs à mettre en évidence le rôle de COPT1 dans l'absorption racinaire de Cu chez *Arabidopsis* (Sancenon et al, 2004). D'autre part, Cu est très

fortement lié aux groupes fonctionnels de l'apoplasme dans les racines (Mengel et Kirkby, 2001). L'adsorption spécifique de Cu sur les parois cellulaires pourrait être une étape préliminaire importante dans le processus d'absorption, et, à l'instar de Fe apoplasmique, Cu apoplasmique pourrait être mobilisé sous déficience en Cu (Graham, 1981 ; Von Wirén et al, 1995).

#### II-4-6 Translocation du cuivre

La translocation est le transport des éléments traces métalliques au sein de la plante. Elle peut varier considérablement en fonction du métal, mais également de l'espèce végétale. Le déplacement des racines vers les parties aériennes est effectuée dans le xylème (Figure N°2), par circulation de la sève brute.



**Figure N°2** : Coupe d'une racine (Bourbonnais, 2007)

Le cuivre est peu mobile au sein de la plante, ses déplacements dépendant étroitement de l'état nutritionnel général, et en particulier du métabolisme de l'azote (Loue, 1993) : le cuivre est relativement immobile pour les plantes souffrant de carence, tandis que sa mobilité est maximale dans le cas d'une consommation de luxe (Kabata-Pendias et Pendias, 1992). Les racines ont en effet une forte capacité à immobiliser le cuivre, au niveau des parois cellulaires, et les mécanismes de translocation sont encore mal connus. Dans les feuilles, le cuivre semble principalement lié aux plastocyanines, tandis que dans le xylème et le phloème, ou les concentrations sont de l'ordre de traces, les concentrations sont liées à celles d'acides-amino. Sur une culture de maïs, on montre que le cuivre était dans un premier temps accumulé au

niveau des racines, puis, après 14 semaines de culture, l'élément était mobilisé vers les parties aériennes.

**Tableau N°4:** Prélèvements de Cu par différentes cultures. (Loué, 1993)

La culture	Cu (g.ha-1)
Céréales	30 - 75
Maïs	25 - 90
Pommes de terre (tubercule)	55 - 90
Betterave	97 - 160
Luzerne	100
Vigne (raisin)	60

#### II-4-7 Distribution dans la plante

La distribution de Cu entre les racines et les parties aériennes varie selon l'espèce, le cultivar et les conditions environnementales (Loneragan, 1981). De nombreux travaux ont mis en évidence une accumulation de Cu dans les racines chez diverses espèces : maïs (*Zea mays* L.) (Ali et al., 2002), blé tendre (*Triticum aestivum* L.) (Chaignon et al., 2002b), colza (Chaignon et al., 2002a), tomate, niébé (*Vigna unguiculata* L.) (Kopittke et Menzies 2006), *Chloris gayana* Knuth (Sheldon et Menzies, 2005).

Le cuivre racinaire est principalement apoplasmique, donc non absorbé à l'intérieur des cellules (Graham, 1981 ; Marschner, 1995 ; Chaignon et al., 2002b). En effet, les parois cellulaires (ou pectocellulosiques) sont constituées d'un réseau de cellulose, pectines et glycoprotéines poreux et se comportent comme des échangeurs d'ions spécifiques. Le cuivre peut ainsi être adsorbé sous forme cationique par les charges négatives des groupes fonctionnels des parois cellulaires qui sont déprotonés à pH neutre ou alcalin (particulièrement les groupes -COOH). Le cuivre peut également être adsorbé sous forme non ionique par des réactions de coordination aux groupements contenant de l'azote également présents dans les parois cellulaires. L'adsorption de Cu au niveau des groupes fonctionnels des parois cellulaires dans l'apoplasme expliquerait son accumulation dans les racines et sa faible translocation vers les parties aériennes, particulièrement en cas de fortes concentrations dans le milieu. Lors de la translocation vers les parties aériennes, Cu serait principalement

transporté dans le xylème complexé par des acides aminés (histidine, voire nicotianamine) (Liao et al., 2000) et des acides organiques (citrate) (Puig et al., 2007).

Le cuivre présente une mobilité limitée à la fois dans les racines et dans les parties aériennes. Les jeunes organes aériens sont par conséquent souvent les premiers sites à développer des symptômes de déficience en Cu (Kabata-Pendias et Pendias 1992). D'autre part, étant donné les propriétés rédox de Cu et ses fortes capacités de complexation, Cu est normalement présent à l'intérieur des cellules, dans le cytoplasme et principalement dans la vacuole, sous forme de complexes avec des chélateurs capables de tamponner la concentration en espèce ionique libre : anions organiques (citrate, malate), acides aminés (histidine, nicotianamine), métallothionéines et phytochélatines (Marschner, 1995 ; Clemens, 2001).

#### II-4-8 Rôle physiologique du cuivre dans la plante

Le cuivre est un élément de transition à activité redox avec des rôles dans la photosynthèse, la respiration, le métabolisme de C et N, et la protection contre le stress oxydatif. Comme Fe, il forme des complexes très stables et participe à des réactions de transfert d'électrons. Le Cu divalent est facilement réduit en Cu monovalents qui est instable (Marschner, 2012). Il est associé à de nombreuses enzymes intervenant dans des processus physiologiques clés tels que la photosynthèse et la respiration (Kabata-Pendias et Pendias, 1992 ; Mengel et Kirkby, 2001) :

- la plastocyanine des chloroplastes : protéine participant à la chaîne de transport des électrons au cours de la photosynthèse,
- la superoxyde dismutase : responsable de la détoxification de radicaux superoxydes,
- la cytochrome oxydase : oxydase terminale de la chaîne de transport d'électrons dans les mitochondries (respiration),
- l'ascorbate oxydase : catalysant les réactions d'oxydation de l'acide ascorbique,
- les peroxydases et les phénols oxydases : enzymes impliquées dans la synthèse des plastocyanines et de la lignine, respectivement.

Le cuivre a une forte affinité pour les groupes sulfhydriles et peptidiques, et donc à des protéines riches en cystéine, ainsi que également des groupes carboxyliques et phénoliques.

Par conséquent, plus de 98% du Cu dans les plantes est présent dans des formes complexées et les concentrations de  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Cu}^+$  libres sont extrêmement faibles dans le cytoplasme.

Par ailleurs, Cu a un effet marqué sur la formation et la composition chimique des parois cellulaires via son rôle direct dans la biosynthèse de la lignine. D'ailleurs, chez des plantes souffrant de déficience en Cu sévère, les vaisseaux du xylème sont insuffisamment lignifiés (Marschner, 2012).

#### II-4-9 Le cuivre, élément phytotoxique

Le cuivre est un oligoélément Potentiellement phytotoxique en trop forte concentration. La phytotoxicité de Cu se manifeste principalement au travers de la rhizotoxicité et parfois de la mise en place d'une déficience induite en Fe. Par ailleurs, sa phytotoxicité semble altérer l'intégrité des membranes plasmiques des cellules racinaires et affecter la perméabilité membranaire provoquant ainsi la perte d'ions (e.g.  $\text{K}^+$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) et de solutés (Kabata-Pendias et Pendias, 1992 ; Marschner, 1995).

##### II-4-9-1 Mécanismes de toxicité de cuivre

Quand la concentration en cuivre dans les organismes est trop importante, il interfère avec de nombreux processus physiologiques. Cette toxicité biochimique découle de la haute réactivité de cet élément. Il est capable de se lier fortement aux molécules riches en électrons, en raison de ses propriétés oxydoréductrices. Cette réactivité peut entraîner par exemple une dépolarisation accompagnée d'un dysfonctionnement physiologique des récepteurs et des transporteurs moléculaires cellulaires, ou encore sa fixation sur des sites actifs de macromolécules (ADN...) contenant des thiols (-SH), des carboxyles ( $-\text{COO}^-$ ), ou des noyaux imidazoles ( $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$ ) (Nriagu 1979; Alt et al. 1990). Ainsi, en se fixant aux groupements thiols des protéines des membranes cellulaires, il provoque la peroxydation des lipides insaturés. On peut également observer la production de radicaux libres suivant la réaction suivante (réaction de Fenton) :  $\text{Cu}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{Cu}^{2+} + \text{OH}^* + \text{OH}^-$ .

La production excessive de ces radicaux libres peut entraîner des réactions d'oxydoréduction en chaîne (stress oxydant) qui aboutissent à la perte de l'intégrité cellulaire (Goldstein et Czapski 1986).

### II-4-9-2 Rhizotoxicité

Le cuivre s'accumule dans les racines et particulièrement dans l'apoplasme, ainsi, sa phytotoxicité agit principalement sur la croissance et la morphologie du système racinaire (Marschner, 1995). Un excès de Cu dans le milieu environnant induit une rhizotoxicité visible au travers d'un épaississement et d'une coloration brune des racines, de la diminution de la ramification et du nombre de poils racinaires et de l'élongation racinaire globale (Marschner, 1995).

Des lésions de l'épiderme sont également observées ainsi qu'un épaississement des apex et des dommages occasionnés sur les méristèmes. Les lésions de l'épiderme observées sous toxicité métallique, comme avec Al, pourraient être dues à une différence de taux d'élongation entre l'intérieur et l'extérieur des cellules. Les effets de la phytotoxicité de Cu sur l'élongation racinaire sont d'ailleurs similaires à ceux provoqués par Al (Blamey, 2001).

La liaison d'AL avec des composés pectiques des parois cellulaires augmenterait la rigidité des parois cellulaires et déplacerait les cations basiques, particulièrement  $\text{Ca}^{2+}$ , diminuant ainsi l'expansion cellulaire et donc l'élongation racinaire. Comme pour les ions  $\text{Al}^{3+}$ , les ions  $\text{Cu}^{2+}$  pourraient inhiber l'élongation racinaire en réduisant l'expansion cellulaire et en augmentant la rigidité des parois cellulaires. D'autre part, la rhizotoxicité de Cu pourrait altérer la nutrition globale de la plante en réduisant le prélèvement d'éléments nutritifs à travers une diminution de la croissance racinaire.

### II-4-9-3 Phytotoxicité au niveau des parties aériennes

La phytotoxicité de Cu au niveau des parties aériennes des plantes peut provoquer une diminution globale de la biomasse. La phytotoxicité de Cu semble également se traduire par l'apparition de déficiences en cas d'exposition à des niveaux très élevés de  $\text{Cu}^{2+}$  libre ( $> 1 \mu\text{M}$ ). (Kopittke et al. (2007b) ont rapporté des diminutions significatives des concentrations en Ca, Fe, K, Mg, Mn et Zn dans les parties aériennes d'une plante pourtant tolérante à Cu, *Chloris gayana* Knuth., et du niébé.

Les principaux symptômes observés chez les plantes suite à une exposition métallique sont une inhibition de la croissance, une chlorose foliaire, des lésions nécrotiques conduisant à un jaunissement progressif puis à un repliement ou un dessèchement du feuillage.

#### II-4-9-4 Effet du cuivre sur l'activité photosynthétique :

Le Cu serait responsable d'une inhibition de la photosynthèse par la peroxydation des lipides des membranes des thylakoïdes, le blocage de l'activité de la ribulose, 1-5, biphosphate carboxylase-oxygénase (Vinit-Dunand *et al.*, 2002), de la synthèse de la chlorophylle (Chl), et en interférant au niveau des photosystèmes (Cuypers, 2000). Ceci résulte en une plus forte sensibilité à la photoinhibition. Il y a diminution des contenus en Chl totale, a et b (Chatterjee et Chatterjee, 2000). La diminution des contenus en Chl dans les feuilles se traduit par l'apparition de taches brunes et elle peut s'accompagner d'une diminution des contenus en caroténoïdes (Lou *et al.*, 2004). Cependant des augmentations de Chl dans les feuilles sont aussi observées et seraient dues à une concentration des métabolites cellulaires suite à l'inhibition de l'expansion cellulaire par le Cu, c'est l'effet « bronzing » (Bessoule et Mench 2002).

#### II-4-10 Les mécanismes de tolérance chez les végétaux

Les plantes disposent de nombreux mécanismes connus et possibles de tolérance aux métaux, cependant les mécanismes impliqués en fonction du métal sont différents. Dans le cas du Cu les mécanismes sont variables d'une espèce à l'autre et le rôle des phytochélatines (PC), les métallothionéines (MT) dans la tolérance est encore mal défini.

Plusieurs stratégies sont possibles :

- une diminution du prélèvement des contaminants ou de l'entrée dans les cellules,
- une accumulation dans les racines, ce sont les « exclues », ou dans les parties aériennes, ce sont les accumulatrices (Baker *et al.*, 2000 ; Lou *et al.*, 2004).

##### II-4-10-1 La chélation de Cuivre

Parmi les processus de tolérance envers Cu, la chélation de Cu dans le milieu externe via l'exsudation racinaire de ligands organiques susceptibles de complexer les ions  $\text{Cu}^{2+}$  permet de diminuer sa biodisponibilité, sous réserve que les complexes formés ne puissent être réabsorbés par la racine. D'ailleurs, la sécrétion d'anions organiques a été observée en réponse à de fortes teneurs externes en Cu et Al chez diverses espèces, dont le blé, ce qui diminuerait leur biodisponibilité. Pour limiter les entrées dans la cellule, les plantes peuvent

fixer le Cu au niveau de la paroi cellulaire, comme par exemple dans les racines d'*Elsholtzia haichowensis* où le Cu est lié aux pectines et glycoprotéines de la paroi (Benouis S, 2012).

#### II-4-10-2 La séquestration de cuivre

Par ailleurs, la séquestration de Cu dans les vacuoles et/ou sa chélation avec des ligands dans le cytoplasme (métallothionéines, phytochélatines, acides organiques et aminés) sont d'autres mécanismes de tolérance qui détournent en tamponnant les concentrations de Cu cytosoliques (Marschner, 1995; Clemens, 2001, par exemple chez *Datura stramonium* (Boojar & Goodarzi 2007), chez *Elsholtzia splendens* ou chez *Armeria maritima*.

L'exclusion de Cu des parties aériennes par accumulation dans les racines, principalement par adsorption sur les parois cellulaires, est également un autre mécanisme de tolérance à la toxicité de Cu. Néanmoins, une telle accumulation racinaire de Cu, via l'immobilisation dans l'apoplasme, peut entraîner une rhizotoxicité. (Marschner, 1995)

### III- Le modèle biologique *Vicia faba*

#### III-1-la plante

##### III-1-1. Classification

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

Sa classification systématique est la suivante :

-Règne	<i>Plantae</i>
-Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
-Division	<i>Magnoliophyta</i>
-Classe	<i>Magnoliopsida</i>
-Sous-classe	<i>Rosidae</i>
-Ordre des	<i>Fabales</i>

-Famille des *Fabaceae*

-Genre *Vicia*

-Espèce *faba*

Il en existe 2 sous-espèces, *paucijuga* et *eu-faba*. Dans la sous-espèce *eu-faba* qui nous intéresse, on dénombre 3 variétés différentes (Gallais and Bannerot 1992) :

- *Vicia faba major*, la fève maraîchère à grosses graines destinées à la consommation humaine ;
- *Vicia faba minor*, la petite fève ou féverole utilisée pour l'alimentation du bétail ;
- *Vicia faba equina*, la fève à cheval à grains moyens aussi appelée féverole ou févette dans certaines régions. Comme son nom l'indique elle est également destinée à l'alimentation du bétail.

### III-1-2 Description

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

L'appareil végétatif comprend : les racines, la tige et les feuilles quant à son appareil reproducteur, il est formé par les fleurs qui sont à l'origine des fruits et des graines.

#### a- Les racines

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

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.

#### b- La tige

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 (Duc, 1997 ; Brink et Belay, 2006).

### **c- Les feuilles**

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

### **d- Les fleurs**

Les fleurs sont de type papilionacé, de 2 à 3 cm de long, de couleur blanche, marron ou violette et portent sur chaque aile une macule noire ou marron (Duc, 1997).

L'inflorescence est en grappe axillaire de 1 à 6 fleurs. Les fleurs sont constituées d'un calice à 5 sépales, d'une corolle blanche à 5 pétales (la carène, les ailes et l'étendard), de 10 étamines dont 9 sont soudées et 1 libre. L'ovaire est supère et sessile avec 2 à 4 ovules allant parfois jusqu'à 9. La floraison débute en moyenne au niveau du 7<sup>ème</sup> nœud et continue jusqu'aux 20 nœuds suivants (Brink et Belay, 2006).

La reproduction chez la fève peut être selon les lignées autogame, mais l'activité de butinage des abeilles sur la fève assure une pollinisation croisée et améliore significativement la production de la plante par rapport à l'autofécondation (Benachour et al., 2007).

Selon Chaux et Foury (1994), la fève est allogame pour 40 à 60 % de sa floraison, la pollinisation est essentiellement assurée par les bourdons, ce qui engagera à prendre des précautions dans le choix des produits de traitements effectués durant la floraison.

### **e- Les fruits**

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

### f- Les graines

Les graines sont charnues, de couleur vert tendre à l'état immature, elles développent, à complète maturité, un tégument épais et coriace de couleur brun rouge à blanc verdâtre et prend une forme aplatie à contour presque circulaire ou réniforme (Chaux et Foury, 1994).

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'épicotyle qui émerge du sol.



**Figure N°3** : Les différentes parties de la fève *Vicia faba* L. (Thomé 1885).

### III-2 Cycle biologique

La fève est une plante annuelle, son cycle complet, de la graine à la graine est d'environ 5 mois (Chaux et Foury, 1994).

D'après Brink et Belay (2006), le développement de la fève est caractérisé par cinq stades principaux : germination et levée, développement végétatif, développement reproductif, sénescence de la gousse et sénescence de la tige.

### III-3 Culture

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

Il s'agit d'une plante annuelle. Elle peut se semer sous des climats très cléments à l'entrée de l'hiver, en octobre ou novembre pour donner des fruits dès la mi-avril, dès février dans le sud, mais sous des climats moins favorables il faudra attendre le mois de mars pour les semis et le mois de juin pour la récolte (Foltete, 2010).

### III-4 Cariotype et cycle cellulaire

Le caryotype de *Vicia faba* L. est très simple. Toutes les Génotypes de la plante sont diploïdes, et possèdent six paires de grands chromosomes, dont cinq paires de chromosomes acrocentriques et une paire de chromosomes métacentriques mesurant 15 µm de long, soit environ le double de la longueur des premiers (Duc ,1997). Le noyau de ses cellules renferme 26,7 pg d'ADN dont beaucoup d'heterochromatine (Bennett 1976), ce qui est très élevé par rapport à beaucoup d'autres plantes. En comparaison, le pois *Pisum sativum* n'en possède que 9,8 pg. Le cycle cellulaire normal de la plante. Il dure environ 19,3h au total (Evans et Scott, 1963).

### III-5 Intérêt en écotoxicologie

Robuste, facile à se procurer et à faire germer, la fève permet, par la rapidité de sa germination et de sa croissance, de disposer très facilement de jeunes pousses dont les racines secondaires seront déjà utilisables pour les tests au bout d'une dizaine de jours seulement. De plus, cette plante, utilisée aussi en agriculture, peut pousser sur des sols de différentes natures, d'où son intérêt dans les expériences de terrain (Foltete, 2010). La fève est très sensible à la pollution du sol, ce qui en fait un modèle végétal très utilisé en écotoxicologie dans un grand nombre d'études. La simplicité de son caryotype l'a faite élire pour un grand nombre d'études de mutagenèse par le test des aberrations chromosomiques (De Marco et al., 1995). De plus, la grande quantité d'ADN contenue dans son noyau (Bennett, 1976), la rend très sensible aux

molécules génotoxiques (Ferrara et *al.*, 2004). Ainsi, elle est l'un des modèles les plus utilisés dans le test des micronoyaux, pratiqué sur les cellules-filles de ses méristèmes racinaires (Marcato-Romain et al. 2009). Un autre test de génotoxicité, le test des comètes, est également pratiqué sur différents tissus de la plante (Koppen et Verschaeve 1996; Lin et *al.*, 2007). *Vicia faba* L. est en outre aussi employée pour étudier les réponses des marqueurs du stress oxydant et d'autres défenses antitoxiques de la plante comme les phytochélatines (Béraud 2007).

# Chapitre II :

# Matériels et méthodes

### 1. Introduction

Les différents essais menés pour la réalisation du travail présenté consistent en l'évaluation des différentes réactions physiologique, de la fève face au stress métallique induit par le cuivre.

L'expérimentation est conduite sous une serre en verre, au niveau de la ferme expérimentale de Mezaghran, et les testes réalisés pour l'estimation de l'effet du cuivre sur le comportement de la fève sont menés au laboratoire de la biodiversité et de la conservation des eaux et du sol, université de Mostaganem.



**Fig N°4** : La serre en verre de Mezaghran

### 2. Matériels végétal utilisé

Les graines de la fève utilisée dans cette étude sont d'une variété locale appelée Sidi Aïch, ces graines sont soigneusement fournies par le Centre National de Contrôle et de Certification des Semences et Plantes (CNCCSP) station est d'El-Khroub (Constantine).

### 3. Préparation de substrat de culture

Les pots utilisés ont 3,5 l de volume de Poids. Ces pots sont remplis d'une manière identique par un sol prélevé au niveau de la ferme expérimentale de Mazaghran, à une profondeur de 20 cm, tamisé par un tamis pour éliminer les grosses particules, et bien mélangé pour homogénéiser ce milieu de culture. Un échantillon est prélevé pour déterminer la capacité

de rétention de l'eau par la différence entre la quantité d'eau apportée avant l'arrosage et celle drainée après 24h qui est à l'ordre de 30%, et un autre échantillon pour calculer le poids sec de ce sol et déterminer leur propriété physique et chimique (Tab.05)

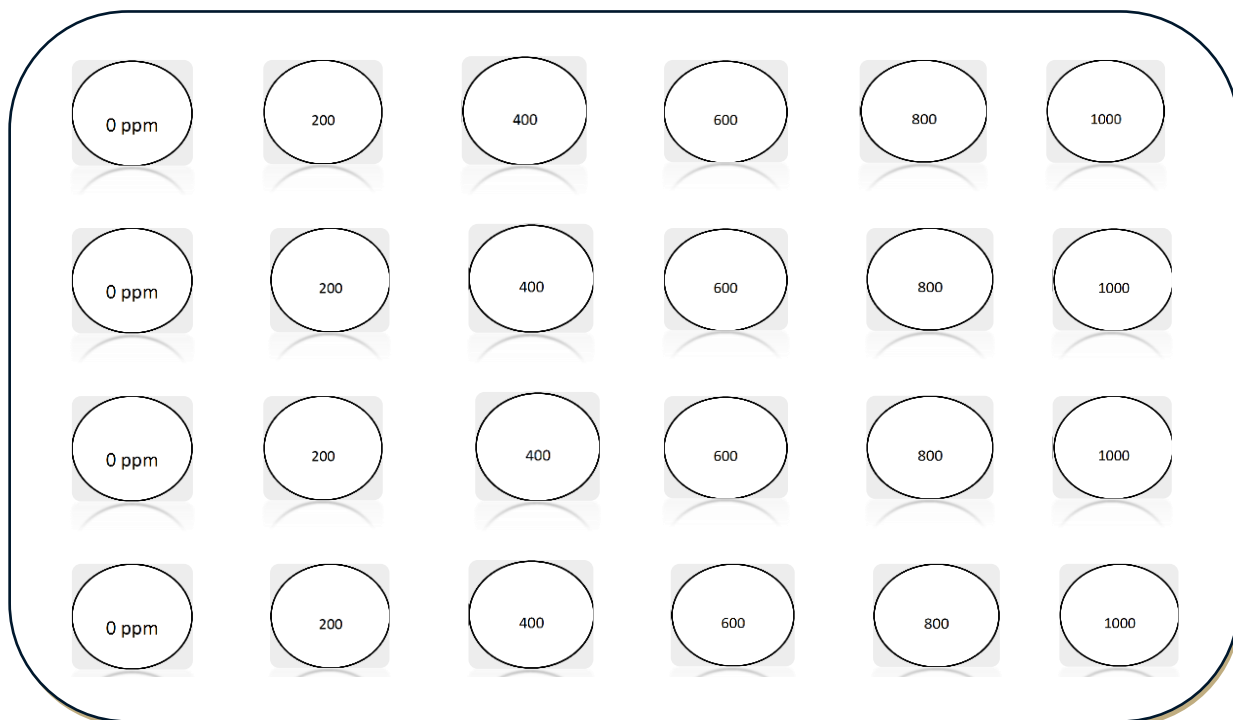
**Tableau n°05** : Propriété physico-chimique du substrat utilisé.

<b>Granulométrie (Pipette De Robinson)</b>	
- $\varnothing < 2\mu\text{m}$	4.91
- $2\mu\text{m} < \varnothing < 20\mu\text{m}$	9.46
- $20\mu\text{m} < \varnothing < 50\mu\text{m}$	6.84
- $50\mu\text{m} < \varnothing < 200\mu\text{m}$	43.85
- $200\mu\text{m} < \varnothing < 2\text{mm}$	34.55
<b>pH (AFNOR X31-103 Sol/Eau : 2/5)</b>	8.59
<b>Conductivité Electrique (<math>\mu\text{S}/\text{cm}</math>) (Iso : 11265 Sol/Eau : 1/10)</b>	162
<b>Matière Organique (%) (Méthode De Walkley)</b>	1.78
<b>U.S.D.A Texture :</b>	Sableux Limoneux

#### 4. Conduite de l'essai

Les graines de *Vicia faba*, sont stérilisées dans une solution d'hypochlorite de sodium à 12%, rincées à l'eau distillée et mises en germination. Après germination, les graines sont repiquées dans les pots remplis par le sol.

Les pots sont répartis selon 06 lots. Un premier lot sert de témoin (D0) et cinq autres subissent un stress métallique, à des intensités croissantes, 200 ppm (D1), 400 ppm (D2), 600 ppm (D3), 800 ppm (D4) et 1000 ppm (D5). Ce traitement se compose de 24 pots, représentant quatre répétitions pour chaque niveau de traitement (lot de traitement). L'ensemble des pots sont maintenus à capacité au champ par apport quotidien d'une quantité d'eau estimée par pesée des pots, afin de les ramener à la capacité de rétention maximale. L'eau d'irrigation est substitué chaque trois fois par une solution nutritive commerciale de type ACTIVEG.



**Fig N°05 :** Schéma de dispositif expérimental adopté.



**Fig N°6 :** Dispositif expérimental

**Tableau N°06:** Composition chimique de la solution nutritive.

Elément chimique	Quantité
N	20%
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	20%
K <sub>2</sub> O	20%
S	0.8%
MgO	0.4%
Fe EDTA	650 ppm
Mn	650 ppm
Mo	50 ppm
SO <sub>3</sub>	0.8%
Cu	60 ppm
Zn	300 ppm
Bore (B)	300 ppm

#### 4.1. Application du stress métallique

Les solutions du sulfate de cuivre Cu SO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O sont préparées et appliquées une fois avant la plantation. L'application de stress métallique se fait en fonction du poids sec de sol, et durant tout le cycle végétatif de la fève (de semis jusqu'à la production des graines) pendant 03 mois. Les doses du Cu SO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O retenus sont, 200, 400, 600, 800 et 1000 mg/kg du sol. Ces doses équivalentes respectivement à 0.7, 1.4, 2.1, 2.8, 3.5 g de Cu SO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O, appliquées dans chaque pot suivant le traitement concerné.

### 5. Les paramètres mesurés

#### 5.1. La teneur relative en eau

Le limbe des feuilles est excisé à sa base et immédiatement pesé (Pi). La partie sectionnée est trempée dans l'eau distillée et placée à l'obscurité, à une température de 4°C pendant 12 heures. Les feuilles sont à nouveau repesées ce qui donne le poids en pleine turgescence (Ppt), enfin la matière sèche est obtenue après l'étuvage à 70°C pendant 48 heures. La teneur relative en eau est déterminée par la relation suivante :

$$RWC = \frac{Pi - Ps}{Ppt - Ps} \times 100$$

### 5.2. Dosage des pigments chlorophylliens

Les pigments sont extraits des feuilles après incubation dans l'acétone 80% durant 24H à 4°C dans une chambre noire afin d'éviter l'excitation des chlorophylles. Les concentrations des chlorophylles (Chl a) et (Chl b) sont déterminées par spectrométrie selon la procédure citée par Lichtenthaler (1987).

Les équations suivantes sont utilisées pour calculer les concentrations des chlorophylles dans les feuilles (en mg/g) (Wang et al., 2010):

- $\text{Chl.a} = 12,25 \times A_{663} - 2,79 \times A_{645}$
- $\text{Chl.b} = 21,50 \times A_{645} - 5,10 \times A_{663}$

### 5.3. Dosage du proline

La méthode suivie est celle de Troll et Lindsley (1955), simplifiée et mise au point par. Elle consiste à prendre 100 mg de matériel végétal (1/3 médian du limbe) puis ajouter 2ml de méthanol à 95 % le tout est chauffé à 95°C dans un bain marie pendant 10 mn. Après refroidissement on prélève 1 ml d'extrait auquel il faut ajouter :

1 ml d'eau distillée et 1 ml de mélange contenant (40 ml d'eau distillée, 60 ml d'acide acétique  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 500 mg de ninhydrine  $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$ )

Le mélange est chauffé à 95 °C dans un bain marie durant 25 à 30 mn, la solution vire au rouge, après refroidissement pendant 5 mn, 3 ml de toluène sont rajoutés à la solution qui est agitée par le vortex, puis laisser le tout à l'obscurité pendant 30 mn

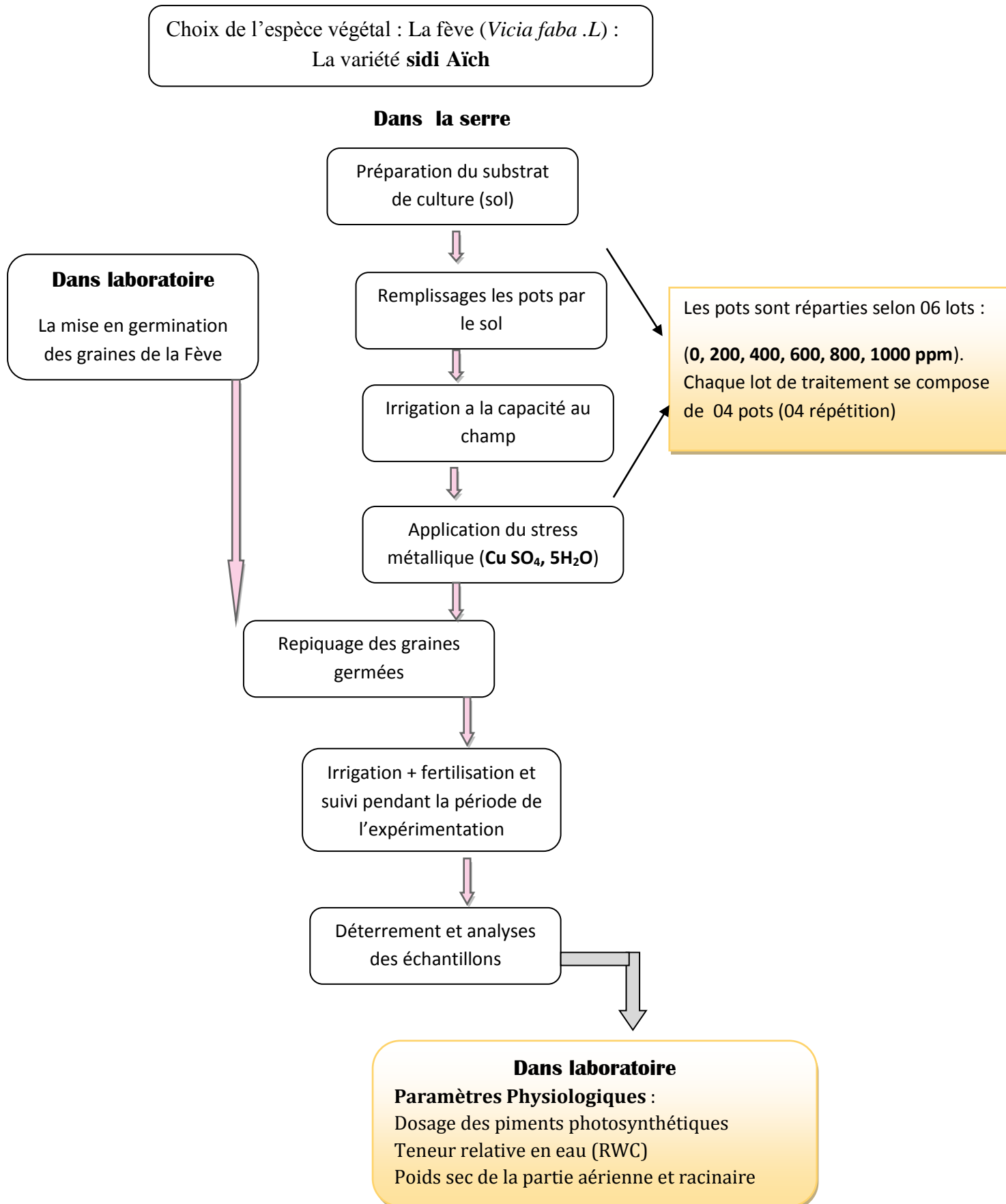
Deux phases se séparent (une phase supérieure, et une phase inférieure). Après avoir éliminé la phase inférieure, on détermine la densité optique à (528 nm). Les valeurs obtenues sont converties en teneur de proline (mg/g MF) à partir de courbe d'étalonnage.

### 5.4. Calcule le poids sec de la partie aérienne et racinaire

La biomasse sèche des parties aériennes et racinaires est déterminée après le passage à l'étuve pendant 48 heures à 80°C à la fin de l'expérimentation.

**6. Analyse statistique**

L'analyse statistique se porte sur l'analyse de variance à un seul facteur en randomisation (le test est significatif quand  $p < 0.05$ ), et sur la comparaison des moyennes par le test de NEWMAN-KEULS. Les différents traitements statistiques des données obtenues sont réalisés par Stat Box version 6.40 et vérifiés par Statistica 8, les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type.

Fig N<sup>07</sup> : Protocole expérimental

# Chapitre III : Résultats et Interprétations

## 1. Effet du cuivre sur les taux des pigments photosynthétiques

### 1.1. Chlorophylle a

**Tableau N°7** : probabilité « *p* » de l'analyse de la variance des paramètres physiologiques de la variété étudiée.

Variables	Probabilité (p)	
<b>Chlorophylle a</b>	0.0222	*
<b>Chlorophylle b</b>	0.07112	NS
<b>RWC</b>	0.19896	NS
<b>Proline</b>	0.00051	***
<b>Poids sec des racines</b>	0.00095	***
<b>Poids sec de la partie aérienne</b>	0.35931	NS

NS Non Significatif,

\* significatif

\*\*\*Très Hautement Significative

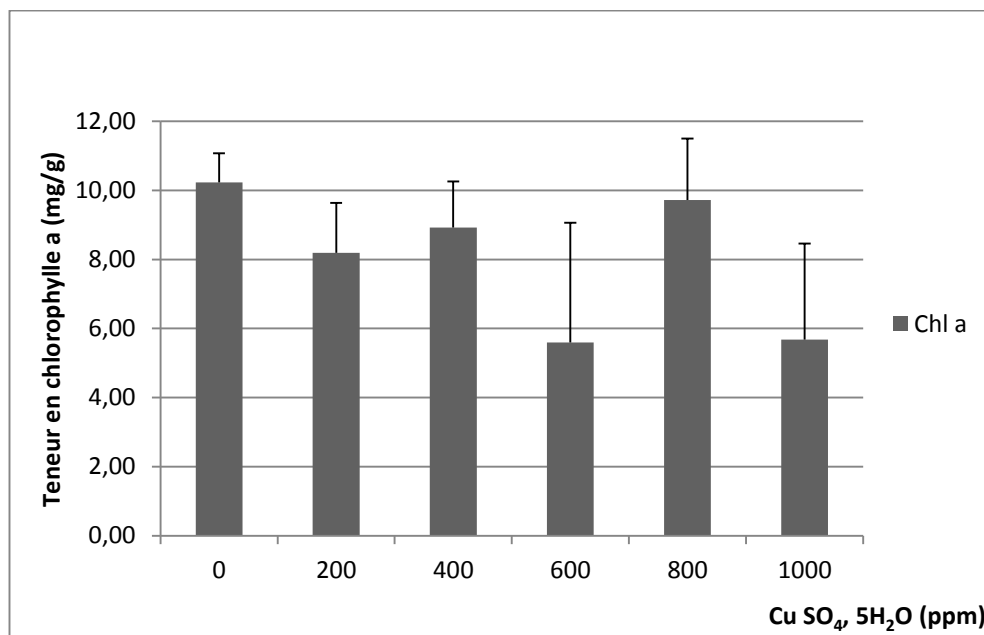
Les résultats obtenus (Tab.08) montrent que l'augmentation des doses de cuivre appliquées provoque une régression de la quantité de la Chlorophylle a. L'intensité de cette diminution est d'une ampleur différente à travers les différentes doses (fig. 08).

Au un niveau de témoin D0, on enregistre une valeur très importante de teneur en chl a, estimée à 10,23mg/g. A l'application du stress métallique D3 et D5, on enregistre la plus faible teneur en chl a, avec un taux de diminution qui atteint respectivement 45,35% et 44,46% par rapport au témoin. Dans les lots, D1, D2, D4, les régressions de la chlorophylle a atteignent respectivement 8,19, 8,92 et 9,72 mg/g, exprimant ainsi des abaissements de l'ordre de 19,94%, 12,80% et 4,79%.

L'analyse des données obtenues (Tab.07), illustre que l'expression de cette caractéristique est influencée par l'application de stress métallique avec ( $p < 0,05$ ).

**Tableau n° 08:** Les teneurs en Chlorophylle a en mg/g des feuilles de la fève exposés au cuivre.

Dose de cuivre (ppm)	Teneur en chlorophylle a (mg/g)	Taux d'évolution (%)
<b>D0 (0 ppm)</b>	10,23±0,84 <sup>A</sup>	-
<b>D1 (200 ppm)</b>	8,19±1,45 <sup>A</sup>	-19,94
<b>D2 (400 ppm)</b>	8,92±1,33 <sup>A</sup>	-12,80
<b>D3 (600 ppm)</b>	5,59±3,47 <sup>A</sup>	-45,35
<b>D4 (800 ppm)</b>	9,72±1,78 <sup>A</sup>	-4,79
<b>D5 (1000 ppm)</b>	5,67±2,79 <sup>A</sup>	-44,46



**Fig.08 :** l'évolution des moyennes des teneurs en chlorophylle a (mg/g) en fonction de la dose du cuivre (ppm).

## 1.2. Chlorophylle b

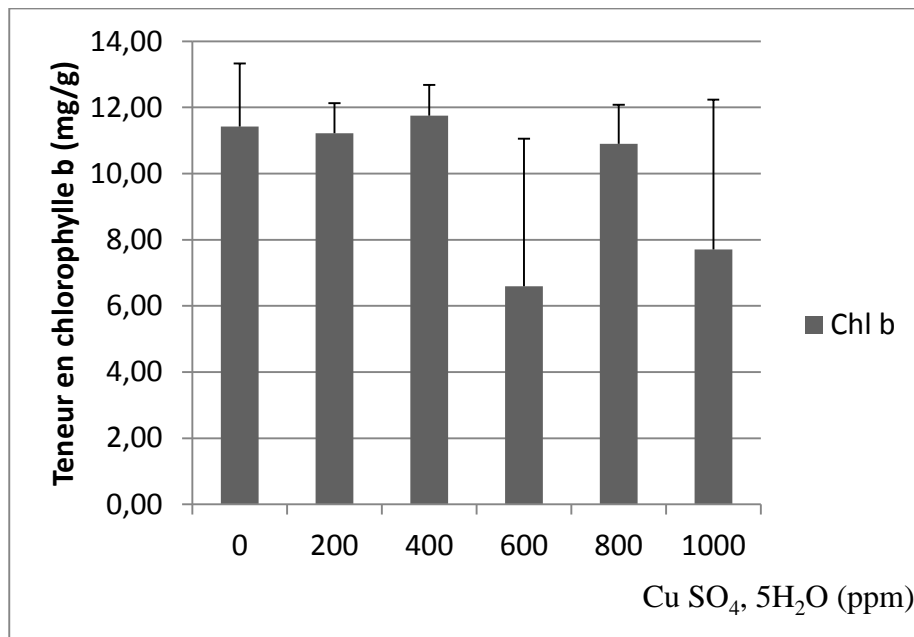
L'étude des résultats obtenus (Tab.09) montre que l'application de stress métallique à différente dose provoque une légère variation de la chl b au niveau de traitement D1, D2 et D4, par contre aux lots D3 et D5 enregistre un fort abaissement de ce paramètre par rapport

à ce qui a été enregistré au lot témoin (D0). En effet, la moyenne enregistrée de au lot témoin est de l'ordre de 11,43mg/g, au niveau du lot D1 et D2, en enregistre une faible diminution estimée respectivement à 11,22 mg/g et 11,76mg/g. sous le traitement métallique D3 et D5, les valeurs moyennes enregistrées expriment des évolutions régressives de l'ordre de 42,34% et 32,54% (fig.09).

L'analyse des données obtenues (Tab.07), illustre que l'expression de cette caractéristique est faiblement influencée par le cuivre ( $p>0,05$ )

**Tableau n° 09:** Les teneurs en Chlorophylle b en mg/g des feuilles de la fève exposés au cuivre.

Dose de cuivre (ppm)	Teneur en chlorophylle b (mg/g)	Taux d'évolution (%)*
<b>D0 (0 ppm)</b>	11,43±1,9	-
<b>D1 (200 ppm)</b>	11,22±0,91	-1,83
<b>D2 (400 ppm)</b>	11,76±0,92	+2,88
<b>D3 (600 ppm)</b>	6,59±4,47	-42,34
<b>D4 (800 ppm)</b>	10,90±1,18	-4,63
<b>D5 (1000 ppm)</b>	7,71±4,52	-32,54



**Fig.09 :** l'évolution des moyennes des teneurs en chlorophylle b (mg/g) en fonction de la dose du cuivre (ppm).

## Discussion

La mesure de la teneur en pigments chlorophylliens permet d'évaluer la toxicité du cuivre vis-à-vis les plantes de la fève. Les résultats obtenus montrent que l'excès de cuivre a provoqué une diminution de la Chl a et Chl b de la feuille, cette diminution est plus marquée pour les plantes issues de traitement D3 et D5, avec un taux qui atteint 45% pour chlorophylle a et entre 42% (D3) et 32% (D5) pour la chlorophylle b. La réduction de la chlorophylle dans la plante sous traitement de cuivre peut être due à l'inhibition des enzymes agissant sur la synthèse de la chlorophylle ou de la dégradation de la chlorophylle.

Le Cu serait responsable d'une inhibition de la photosynthèse par la peroxydation des lipides des membranes des thylakoïdes, le blocage de l'activité de la ribulose, 1-5, biphosphate carboxylase-oxygénase (Vinit-Dunand *et al.*, 2002), de la synthèse de la chlorophylle (Chl), et en interférant au niveau des photosystèmes (Cuypers 2000). Il y a diminution des contenus en Chl totale, a et b (Chatterjee et Chatterjee 2000, Demirevska-Kepova *et al.*, 2004).

La diminution du taux de chlorophylle chez les plantes exposées aux métaux lourds est un phénomène très courant et supposé comme étant préliminaire à l'inhibition de la photosynthèse. Le cuivre semble plus affecter la biosynthèse des chlorophylles que le cadmium chez *Lemna trisulca* (Prasad *et al.*, 2001) et *Chlamydomonas reinhardtii* qui lui-même semble avoir plus d'effets que le plomb chez *Triticum aestivum*. Cependant, les effets observés semblent dépendre de l'âge des feuilles, les feuilles mûres étant plus sensibles que les feuilles néoformées (Krupa et Moniak, 1998).

### 2. Effet du cuivre sur la teneur relative en eau (RWC)

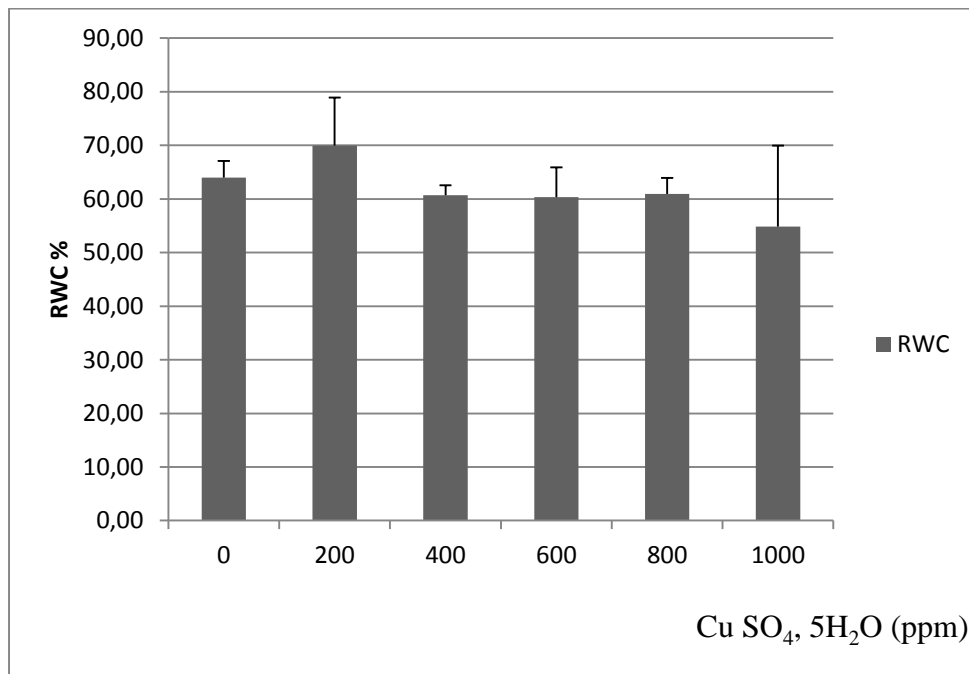
Les résultats dégagés à partir de l'estimation de cette caractéristique (Tab.10), montrent que l'application croissante de cuivre entraîne une réduction des teneurs relatives en eau, sauf qu'au niveau de lot D1. Dans les conditions optimales, on signale une moyenne estimée à 63,97%, au niveau des plantes issues des traitements D2, D3 et D4, on constate une légère diminution des teneurs relative en eau, avec 60,72% pour D2, 60,35% pour D3 et 60,94% pour D4, ces valeurs présentant une faible évolution régressive de -5,08%, -5,65% et -4,73%. Au niveau du traitement D5, on a enregistré la plus faible teneur relative en eau estimée à 54,88%, cependant les plantes cultivées dans le niveau de traitement D1 ont réagi

différemment, avec une teneur relative en eau estimée à 69,96%, valeur exprimant une augmentation de 9,36% par rapport au lot témoin (fig.10).

L'examen des résultats obtenus (Tab.07), montre que le facteur stress métallique provoque un effet faiblement significatif sur la variation des teneurs relatives en eau avec une probabilité qui est égale 0,19 ( $p > 0.05$ ).

**Tableau n° 10** : Les teneurs relatives en eau (%) des feuilles de la fève exposés au cuivre.

Dose de cuivre (ppm)	RWC (%)	Taux d'évolution (%)*
<b>D0 (0 ppm)</b>	63,97±3,14	-
<b>D1 (200 ppm)</b>	69,96±8,95	+9,36
<b>D2 (400 ppm)</b>	60,72±1,85	-5,08
<b>D3 (600 ppm)</b>	60,35±5,53	-5,65
<b>D4 (800 ppm)</b>	60,94±2,97	-4,73
<b>D5 (1000 ppm)</b>	54,88±15,07	-14,20



**Fig.10** : l'évolution des moyennes de la teneur relative en eau (%) en fonction de la dose du cuivre (ppm).

## Discussion

La teneur en eau relative représente un excellent indicateur physiologique, pour estimer l'état d'hydratation des plantes dans les conditions de stress. Les résultats obtenus montrent que l'effet de cuivre, se traduit par une faible diminution de teneur relative en eau dans les plantes soumises aux doses D2, D3 et D4 avec un taux régressif qui alentour au 5% par rapport au témoin. À la dose D5, la teneur relative en eau continue sa diminution et enregistre la plus faible valeur par rapport aux autres doses, avec un taux d'évolution estimé à 14,20% par rapport au témoin. Ces résultats sont conformes à ceux indiqués par (Benouis, 2012), il observe une faible diminution des teneurs relatives en eau en fonction de l'accroissement des doses de cuivre chez deux variétés de la fève (sidi Aich et super Aguadulce). Ont signalé aussi une légère diminution de la teneur relative en eau sous l'effet de cuivre chez *Bituminaria bituminosa*.

De nombreuses études ont mis en évidence une perturbation importante du statut hydrique des plantes traitées aux métaux lourds. Elles ont principalement relevé une diminution de la transpiration, ainsi qu'une diminution de la teneur en eau. Ce phénomène est accentué par la diminution observée des concentrations en molécules maintenant la turgescence cellulaire. Pour maintenir la turgescence de ces cellules, la plante synthétise massivement des osmolytes, et en particulier de la proline (Azooz et al., 2011). En plus, les perturbations du statut hydrique conduisant à la fermeture des stomates. Ceci limite fortement les échanges gazeux avec l'atmosphère, et par conséquent les pertes d'eau par transpiration.

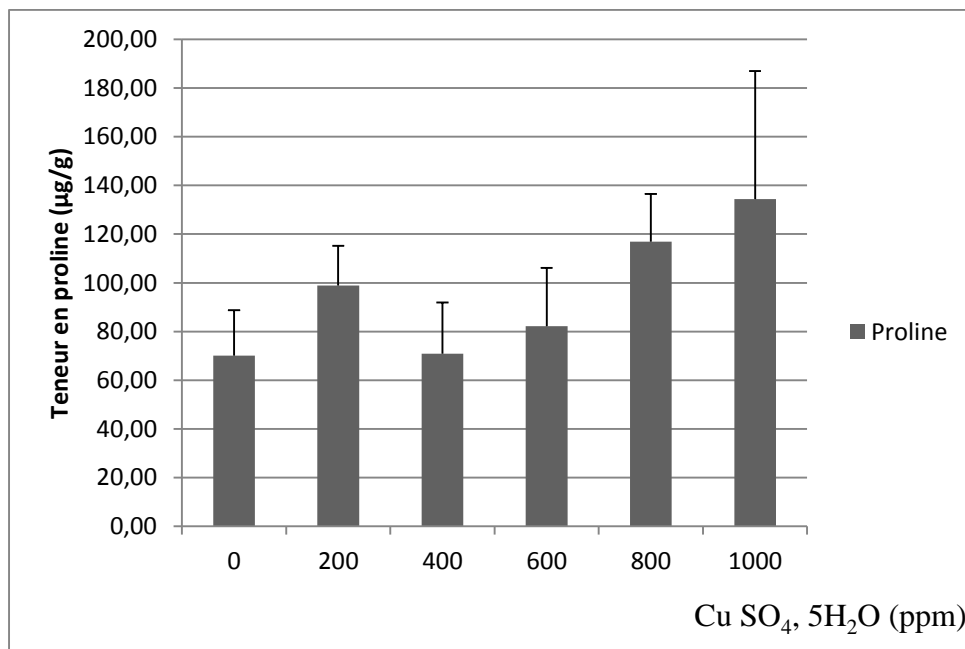
### 3. Effet du cuivre sur la teneur en Proline

Les résultats moyens (Tab.11), montrent que la teneur en proline augmente en fonction de l'accroissement des doses du cuivre appliquées. Dans les conditions optimales D0, on a enregistré une teneur moyenne estimée à 70,03 µg/g. Au niveau du lot D2 on enregistre 70,86 µg/g, valeur sensiblement identique à celle enregistrée au témoin, avec une faible augmentation estimée à 1,18%. Pour les traitements D1, D3 et D4 les quantités de la proline accumulées par les plantes sont évaluées respectivement à 98,82 µg/g, 82,19 µg/g et 116,94 µg/g inscrivants des évolutions progressives estimées à 41,11%, 17,36% et 66,98%. On note également que les plantes exposées à la dose D5, accumulent la plus quantité en proline, qui évaluée à 134,35 µg/g avec un taux d'évolution qui atteint 91,84%, valeur plutôt supérieure à celle enregistrée au témoin (fig.11).

L'analyse de la variance (Tab.07) révèle que les variations de la variation des la teneur en proline dépendent grandement de l'intensité du cuivre ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n° 11:** Les teneurs en proline ( $\mu\text{g/g}$ ) des feuilles de la fève exposés au cuivre.

Dose de cuivre (ppm)	Proline ( $\mu\text{g/g}$ )	Taux d'évolution (%)*
<b>D0 (0 ppm)</b>	70,03±18,72 <sup>B</sup>	-
<b>D1 (200 ppm)</b>	98,82±16,44 <sup>B</sup>	+41,11
<b>D2 (400 ppm)</b>	70,86±21,04 <sup>B</sup>	+1,18
<b>D3 (600 ppm)</b>	82,19±23,99 <sup>B</sup>	+17,36
<b>D4 (800 ppm)</b>	116,94±19,55 <sup>A</sup>	+66,98
<b>D5 (1000 ppm)</b>	134,35±52,71 <sup>A</sup>	+91,84



**Fig. 11 :** l'évolution de la teneur en proline ( $\mu\text{g/g}$ ) en fonction de la dose du cuivre (ppm).

### Discussion

Le dosage de la proline a été réalisé afin d'extérioriser l'un des mécanismes de tolérance adopté par les plantes face à la contrainte métallique. En effet, la proline est un acide aminé souvent considéré comme un biomarqueur de stress (Dinakar *et al.*, 2008).

Les résultats moyens obtenus montrent que les plantes de la fève accumulent des quantités importantes de la proline dans leurs feuilles, et surtout dans les fortes doses D4 et D5, avec des moyennes comprises entre 116 et 134  $\mu\text{g/g}$ . plusieurs études ont été détectés une augmentation de la proline suite à une exposition au stress de cuivre, chez *Vicia faba* (Aleksandra et al 2013), *Canavalia ensiformis*, et chez *Coffea arabica* . (Andrade et al, 2010).

L'accumulation de proline soit couramment observée lors de stress environnementaux comme la présence de métaux lourds, le stress oxydatif, la sécheresse. En effet, la proline est un acide aminé souvent considéré comme un biomarqueur de stress (Dinakar et al., 2008), et considéré comme un chélateur de métaux grâce aux groupement thiol (-SH) et un protecteur de la structure subcellulaire cela est liée à son rôle protecteur de soluté compatible impliqué dans la stabilisation des membranes et des protéines (Okuma et al., 2002). Mais il a aussi été montré que la proline pouvait être impliquée dans la diminution de la quantité de radicaux libres dans le piégeage des espèces réactives de l'oxygène ou encore une fonction dans l'ajustement osmotique chez certaines espèces (Verbruggen et Hermans, 2009).

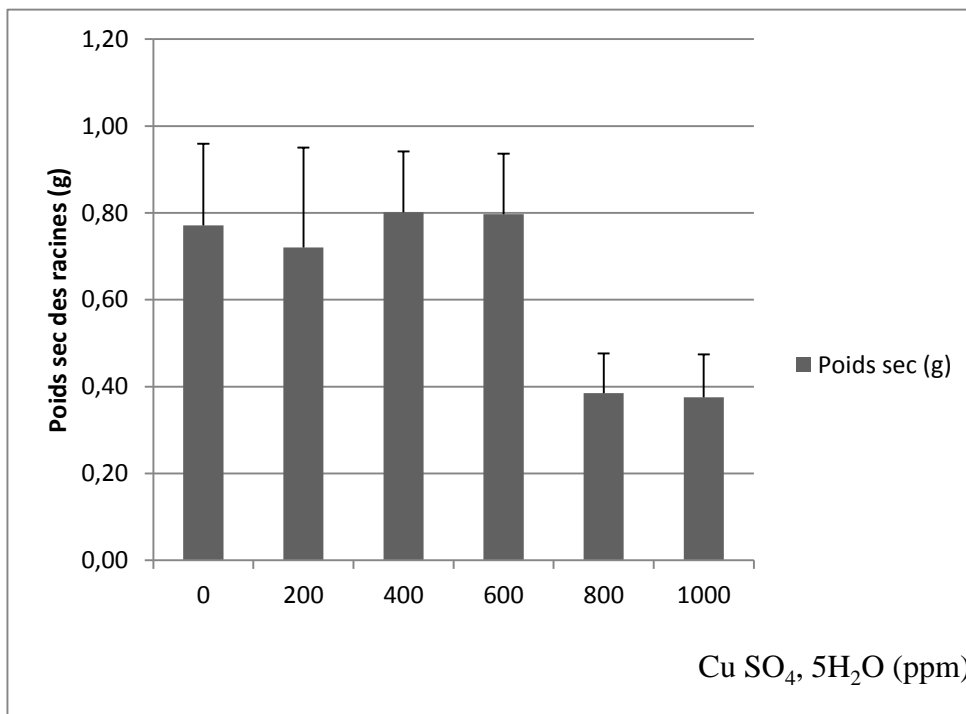
#### **4. Effet du cuivre sur le poids sec des racines**

L'examen des résultats obtenus (Tab.12) montre que l'application du cuivre à différentes doses provoque une variation controversée des poids secs racinaires. Au niveau des lots D2 et D3, on distingue une faible augmentation de poids sec par rapport au témoin, cette augmentation est de l'ordre de 3,89% et 2,59%. Par contre chez les plantes subissent les doses D4 et D5, on enregistre des valeurs avoisinantes avec des évolutions régressives de l'ordre de -50,64%, -51,94%, ainsi que pour le traitement D1, on remarque une abaissement de ce paramètre estimé à -6,49% par rapport au lot témoin (fig.12).

L'examen des résultats obtenus (Tab.07) indique que le poids sec de la partie racinaire est influencé d'une manière très hautement significative par l'intensité du cuivre ( $p < 0,005$ ) avec  $p = 0,0009$ .

Tableau n° 12 : Le poids sec de la partie racinaire en g de la fève exposés au cuivre.

Dose de cuivre (ppm)	Poids sec racine (g)	Taux d'évolution (%)*
D0 (0 ppm)	0,77±0,18 <sup>A</sup>	-
D1 (200 ppm)	0,72±0,22 <sup>A</sup>	-6,49
D2 (400 ppm)	0,80±0,13 <sup>A</sup>	+3,89
D3 (600 ppm)	0,79±0,13 <sup>A</sup>	+2,59
D4 (800 ppm)	0,38±0,09 <sup>B</sup>	-50,64
D5 (1000 ppm)	0,37±0,09 <sup>B</sup>	-51,94



**Fig. 12 :** l'évolution des moyennes du Poids sec de la partie racinaire en (g) en fonction de la dose du cuivre (ppm).

### 5. Effet du cuivre sur le poids sec de la partie aérienne

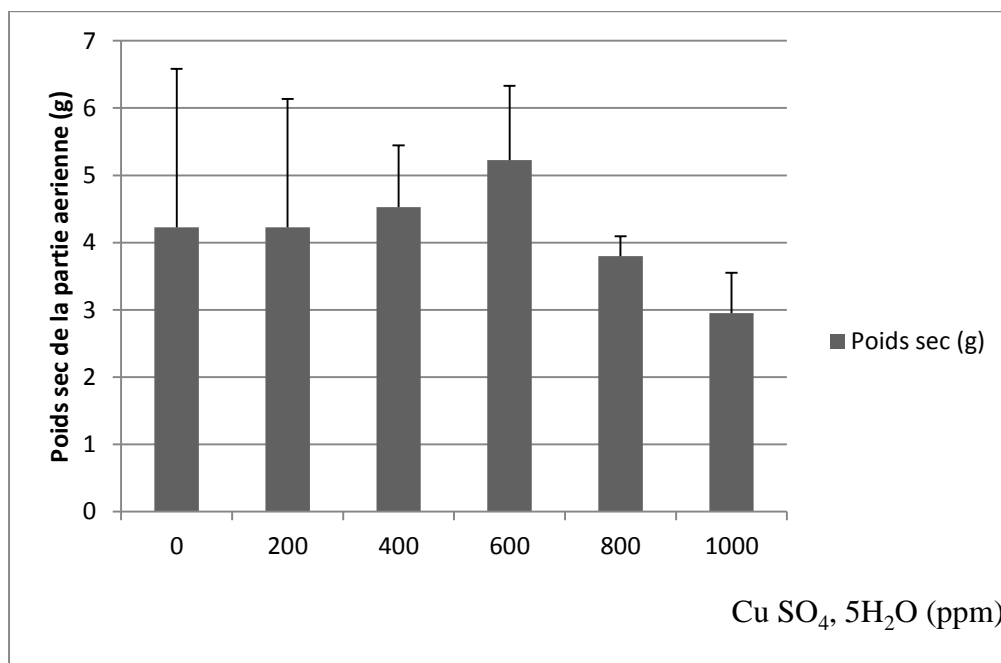
Les résultats moyens mentionnés dans le tableau (Tab.13), relèvent que L'application croissante du cuivre induit une diminution des poids secs de la partie aérienne pour les fortes doses (D4 et D5) par contre au D2 et D3 on distingue une augmentation de poids sec avec l'accroissement de l'intensité de cuivre, cette augmentation est plus marquée au niveau de traitement D3, avec un taux d'évolution qui atteint 23,69%. Contrairement au D5, le poids sec de la partie aérienne diminué avec un taux de -30,09% par rapport au témoin. On distingue

aussi des valeurs moyennes égales chez les plantes issues des traitements témoin et D1(fig.13).

L'examen des résultats obtenus (Tab.07), montre que le facteur stress métallique provoque un effet faiblement significatif sur la variation des poids secs de la partie aérienne ( $p > 0.05$ ).

**Tableau n° 13** : Le poids sec d la partie aérienne en g de la fève exposés au cuivre.

Dose de cuivre (ppm)	Poids sec partie aérienne (g)	Taux d'évolution (%)*
<b>D0 (0 ppm)</b>	4,22 ± 2,35	-
<b>D1 (200 ppm)</b>	4,22 ± 1,90	0
<b>D2 (400 ppm)</b>	4,52 ± 0,92	+7,10
<b>D3 (600 ppm)</b>	5,22 ± 1,10	+23,69
<b>D4 (800 ppm)</b>	3,8 ± 0,29	-9,95
<b>D5 (1000 ppm)</b>	2,95 ± 0,60	-30,09



**Fig. 13** : l'évolution des moyennes du Poids sec de la partie aérienne en (g) en fonction de la dose du cuivre (ppm).

### Discussion

Selon les résultats obtenus, la biomasse sèche aérienne et souterraine varient en fonction des doses de cuivre, cette variation s'avère très marquée pour le traitement métallique D4 et D5, avec une régression qui alentours à 50% par rapport au témoin pour la biomasse aérienne, et qui atteint à 30% au D5 pour la biomasse sèche souterraine. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Bes et *al* (2008), ils indiquent que le Cu induit une diminution de la biomasse sèche aérienne du *Xanthium strumarium*. Une diminution de biomasse sèche souterraine du *Festuca arundinacea L* et *Lolium perenne L* à été observé par (Alaoui-Sossé, 2004), à montré aussi que le poids sec de la partie aérienne et souterraine du *Cucumis sativus* est diminuée sous l'effet du cuivre.

Dans le cas d'une exposition au Cu par la solution du sol, les plantes concentrent d'abord le Cu dans les racines et ce sont les organes qui subissent en premier les impacts du Cu (Cuypers 2000) et qui sont les plus atteints. La diminution de la croissance des racines a pour conséquence une diminution de la surface de prélèvement de la plante et donc une diminution du prélèvement en eau et nutriments. L'inhibition de la croissance racinaire peut s'expliquer par les processus de lignification. Quand le Cu est en excès dans les cellules des racines la concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et les quantités de peroxydases impliquées dans la synthèse de la lignine augmentent (Lin et *al.*, 2005). La lignine peut aussi se lier avec les polysaccharides des parois cellulaires, ce qui va les rigidifier et gêner la croissance des cellules et l'imprégnation en Cu du végétal induit une diminution de la biomasse aérienne des plantes d'autant plus importante que la contamination est élevée. Ces diminutions seraient dues à des faibles niveaux de Ca dans les feuilles car le Ca affecte la division et l'élongation cellulaire (Cook et al. 1997).

# Conclusion

### Conclusion

La phytotoxicité des métaux lourds vis-à-vis les plantes est constitué un problème majeurs qui touche la productivité des espèces végétales utilisé dans le domaine agricole. Dans ce travail, nous avons étudiés l'effet du cuivre sur quelques paramètres physiologiques de la fève (*vicia faba* .L).

L'ensemble des observations mesurées concernant l'effet du cuivre sur l'activité photosynthétique ont permis de constaté que l'application du cuivre est accompagné par une nette diminution des teneurs en pigment photosynthétique, en particulier en présence de la concentration de 600 ppm et 1000 ppm, avec un taux de diminution qui varient entre 45% pour la chlorophylle a, et entre 42% (600 ppm) et 32% (1000 ppm) pour la chlorophylle b.

Cette situation est accompagnée d'une réduction de la biomasse sèche aérienne et racinaire suite à une application des doses 800 et 1000 ppm. La partie racinaire est plus affectée par ces doses, avec une régression qui avoisine 51%. Pour la biomasse aérienne, l'effet ne se manifeste qu'à partir la dose 800 ppm, où ce paramètre enregistre un taux de diminutions entre 09,95% à 30% respectivement pour les doses 800 et 1000 ppm. Une situation controversée est observée chez les plantes traités par les doses 400 et 600 ppm, où l'application du stress a induit un accroissement de la biomasse caulinaire et racinaire de la fève.

L'étude de l'effet du cuivre sur le statut hydrique des plantes, à partir de l'évaluation de la teneur relative en eau, a montré que l'application de dose 1000 ppm à provoqué une diminution remarquable de la teneur relative en eau (14%). Dans les doses 400, 600 et 800 ppm, la diminution de ce paramètre ne dépasse pas 5,6%.

L'exposition des plantes de la fève à des doses élevées de cuivre provoque une accumulation de la proline dans les feuilles. Les augmentations de la proline constatées sont dans les limites de 45 % chez les plantes stressées par les doses 600 et 1000 ppm, et entre 12% et 19% pour les doses 200 et 400 ppm.

---

-∞\* LISTE DES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES \*∞-

**Abderrazzak BA, 2012.** Etude de contamination et d'accumulation de quelques métaux lourds dans des céréales, des légumes et des sols agricoles irrigués par des eaux usées de la ville de hammam boughrara. Thèses de doctorat, chimie de l'environnement, université de Tlemcen

**Adriano DC (2001)** Copper. In: Trace elements in terrestrial environment, biogeochemistry, bioavailability, and risks of metal, 2nd Edition, pp. 499–546

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

**Aleksandra, K. Alina, KC. Marta, G.Janina, ZR .Agnieszka,** "Accumulation of heavy metals and antioxidant responses in *Vicia faba* plants grown on monometallic contaminated soil," Environ Sci Pollut Res 2013;20:1124–1134

**Ali NA, Bernal MP and Ater M (2002)** Tolerance and bioaccumulation of copper in *Phragmites australis* and *Zea mays*. Plant and Soil 239, 103–111

**Alt, E. R., Sternlieb, I., et Goldfischer, S. (1990).** "The cytopathology of metal overload." International Review of Experimental Pathology , 31, 165-188.

**Anatole Monnier PL, 2014 ;** Effets de la contamination cuprique des sols viticoles sur la sensibilité de la vigne à un cortège de bio-agresseurs. These de doctorat, Université de Bordeaux. 28pp

**Andradea SAL; Priscila LG; Ricardo A; Azevedob Adriana PD; Silveirac M A; Schiavinatoa, PM, 2010.** Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations. Environmental and Experimental Botany (68): 198–207

**Azouz MM; Youssef MM; Al-Omair MA, 2011.** Comparative evaluation of zinc and lead and their synergistic effects on growth and some physiological responses of Hassawi Okra (*Hibiscus esculentus*) seedlings. American journal of plant physiology 6 (6): 269-282.

---

**Baize, D.** 1997. Teneurs totales en éléments trace métalliques dans les sols (France). INRA Editions, Paris. 408 p

**Baker JM, SP McGrath, RD Reeves, & JAC Smith.** 2000. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal - polluted soils. in N. T. G. Banuelos, editor. Phytoremediation of contaminated soil and water. CRC Press LLC.

**Baker, A.J.M., and Walker, P.L.** (1990). Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: Shaw, J. (Ed.). Heavy Metal Tolerance in plants: Evolutionary aspects. CRC Press, Boca Raton, Florida, 155-178.

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

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

**Benouis S, (2012).** Contribution à l'étude de l'effet des métaux lourds (Cuivre) sur les caractéristiques biométriques et chimiques de la fève (*Vicia faba.L.*). Thèses de Magister. Université de Mostaganem, 24pp

**Beraud E,** 2007. Etude des effets genotoxiques et de l'induction des phytochelatines chez *Vicia faba* (Fabaceae) exposée au cadmium. Application du test Vicia-micronoyaux à des matrices complexes. Metz: Université de Metz. 107 p.

**Bes C ; Mench M ; Gaste H ; Tabarly J ;Aulen M ; Gawronski S,** 2008. La réponse au Cu chez *Amorpha fruticosa*, *Carex praecox*, *Sporobolus indicus* et *Xanthium strumarium*. Phytoremédiation des sols d'un site de traitement du bois contaminés par le cuivre. Thèse Doctorat, 225p.

**Bessoule JJ ; Mench M,** 2002. Sols et déchets – Biomarqueurs métaboliques d'effet et d'exposition des végétaux aux métaux traces : candidats lipidiques. Ademe, Angers

---

**Blamey FP** (2001) The role of the root cell wall in aluminium toxicity. Plant nutrition acquisition: new perspectives, workshop on new concepts of plant nutrient acquisition, Tsukuba, 1998. pp. 201–226

**Boojar MMA ; F Goodarzi**, 2007. The copper tolerance strategies and the role of antioxidative enzymes in three plant species grown on copper mine. Chemosphere 67, 2138-2147.

**Bourbonnais G.**, (2007).[http://ici.cegep-ste-foy.qc.ca/profs/gbourbonnais/pascal/nya/botanique/powerpoint/botanique\\_4.ppt#15](http://ici.cegep-ste-foy.qc.ca/profs/gbourbonnais/pascal/nya/botanique/powerpoint/botanique_4.ppt#15)

**Bourelrier P.H., Berthelin J.**, 1998. Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion. Académie des Sciences, rapport 42, août 1998, Lavoisier Tec et Doc., 440p.

**Brink M, Bellay G(2006)**.Ressources végétales de l’Afrique tropicale I : céréales et légumes secs, Protas, Pays bas, pp.221-223.

**Cetois A., Quesnoit M., Hinsinger P.**, 2003. Soil copper mobility and availability. A review, 110p.

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

**Chaignon V, Bedin F and Hinsinger P** (2002a) Copper bioavailability and rhizosphere pH changes as affected by nitrogen supply for tomato and oilseed rape cropped on an acidic and a calcareous soil. Plant and Soil 243, 219–228

**Chaignon V, Di Malta D and Hinsinger P** (2002b) Fe-deficiency increases Cu acquisition by wheat cropped in a Cu-contaminated vineyard soil. New Phytologist 154, 121–130

**Chatterjee J; Chatterjee C**, 2000. Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. Environmental Pollution 109, 69-74.

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

**Clemens S.**, 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. Planta, 212, 475-486.

---

**Cook CM; Kostidou A; Vardaka E; Lanaras T**, 1997. Effects of copper on the growth, photosynthesis and nutrient concentrations of Phaseolus plants. *Photosynthetica*. 34: 179-193.

**Cuypers A**, 2000. Phytotoxic concentrations of copper and zinc induce antioxidative defence in *Phaseolus vulgaris*, cv. Limburgse vroege: a comparative study. *Limburgs universitair centrum*, Diepenbeek, Belgium.

**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.

**Demirevska-Kepova KL; Simova-Stoilova Z; Stoyanova R; Holzer U ;Feller**, 2004. Biochemical changes in barley plants after excessive supply of copper and manganese. *Environmental and Experimental Botany* 52, 253-266

**Dinakar N; Nagajyothi PC; Suresh S; Udaykiran Y; Damodharam T**, 2008. Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea L.* seedlings. *Journal of Environmental Sciences-China* 20: 199-206

**Duc G (1997)**. Faba bean (*vicia faba L.*). *Field crops Research*. 53:99-109.

**Ebbs SD; Lasat MM; Brady DJ; Cornish J; Gordon R; Kochian LV**, 1997. Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated soil.- *J. Environ. Qual.*, 26 : 1424-1430.

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

**Evans HJ; Scott D**, 1963. Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by X rays and maleic hydrazide in *Vicia faba*. *Genetics* 49:17 38.

**Fernandez-Calvino D., Novoa\_Munoz J. C., Lopez-Pezperiago E., Arias-Estevez M.,** 2008. Changes in copper content and distribution in young old and abandoned vineyard acid soil due to land use changes. *Land Degradation & Development*, 19, 165-177.

**Ferrara G ; Loffredo E ; Senesi N**, 2004. Anticlastogenic, antitoxic and sorption effects of humic substances on the mutagen maleic hydrazide tested in leguminous plants. *Eur. J. Soil Sci.* 55(3):449-458.

---

**Flemming, C. A., et Trevors, J. T.** (1989). "Copper toxicity and chemistry in the environment: a review." *Water, Air, & Soil Pollution* , 44(1), 143-158.

**Foltete AS,** 2010. Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* Fabaceae dans le cadre de l'évaluation des sols pollués. These de doctorat, Université Paul Verlaine – Metz, p245.

**Gallais A, Bannerot H.** 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées: objectifs et critères de sélection. Paris: INRA

**Goldstein, S., et Czapski, G.** (1986). "The role and mechanism of metal ions and their complexes in enhancing damage in biological systems or in protecting these systems from the toxicity of O<sub>2</sub>-." *Journal of Free Radicals in Biology Medicine* , 2(1), 3-11.

**Graham RD** (1981) Absorption of copper by plant roots. In: *Copper in soils and plants* (Loneragan JF, Robson AD & Graham RD Eds), Academic Press, pp. 141–163

**Hänsch R., Mendel R.R.** 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology* 12 : 259-266.

**Kabata Pendias A.,** 2010. Trace elements in soils and plants. 3 rd Edition, CRC Press, Boca Raton, Florida, 432 p.

**Kabata-Pendias A and Pendias H** (1992) Copper. In: *Trace elements in soils and plants*, 2nd Edition, CRC Press, pp. 95–108

**Kopittke P M and Menzies N W** (2006) Effect of Cu toxicity on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Plant and Soil* 279, 287–296

**Kopittke P M, J. D P and Menzies N W** 2007b Toxic effects of low concentrations of Cu on nodulation of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environmental Pollution* 145, 309-315.

**Krupa Z; Moniak M,** 1998. The stage of leaf maturity implicates the response of the photosynthetic apparatus to cadmium toxicity. *Plant Sci.* 138, 149-156.

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

---

**Liao MT, Hedley MJ, Wooley DJ, Brooks RR and Nichols MA** (2000) Copper uptake and translocation in chicory (*Cichorium intybus* L. cv Grasslands Puna) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv Rony) plants grown in NFT system. II. The role of nicotianamine and histidine in xylem sap copper transport. *Plant and Soil* 223, 243–252

**Lichtenthaler H K**, 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. *Methods Enzymology*, 148: 350–381.

**Lin AJ; Zhang XH; Chen MM; Cao Q**, 2007. Oxidative stress and DNA damages induced by cadmium accumulation. *J. Environ. Sci. (China)* 19(5):596-602.

**Lin CC; Chen LM; Liu ZH**, 2005. Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots. *Plant Science* 168, 855-861.

**Loneragan JF** (1981) Distribution and movement of copper in plants. In: *Copper in soils and plants*. Eds Loneragan JF, Robson AD and Graham RD, Academic Press, pp. 165–187

**Lou LQ, ZG Shen, & XD Li**. 2004. The copper tolerance mechanisms of *Elsholtzia haichowensis*, a plant from copper-enriched soils. *Environmental and Experimental Botany* 51, 111-120.

**Loué, A. (1993)**. *Oligo-éléments en agriculture*. Ed. Nathan (ed), 45-177.

**Marcato-Romain C ; Guiresse M ; Cecchi M ; Cotellet S ; Pinelli E**, 2009. New direct contact approach to evaluate soil genotoxicity using the *Vicia faba* micronucleus test. *Chemosphere* 77:, 345-350.

**Marschner H** (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd edn. London, UK, Academic Press. 889 p.

**Marschner P.** (2012). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Third Edition. Elsevier Ltd. p 651

**Mengel K and Kirkby EA** (2001) Soil copper. In: *Principles of plant nutrition*, 5th Edition, Kluwer Academic Publishers, pp. 599–611

---

**Nakayama T., Yonekura-Sakakibara K., Kikuchi S., Fukui Y., Fukuchi-Mizutani M., Ueda T., Nakao M., Tanaka Y., Kusumi T., Nishino T., 2000.** Aureusidin Synthase : A polyphenol oxidase homolog responsible for flower coloration. *Science*, 290, 1163-1166.

**Navel A.** Distribution, spéciation impact et transfert du cuivre dans un sol sous vigne : rôle de la structuration spatiale et du statut organique. *Sciences de la Terre*. Université de Grenoble, 2011. Français.

**Nriagu, J. O.** (1979). *Copper in the environment: Part 1 Ecological cycling* , John Wiley & Sons Ltd, New York.

**Okuma E; Soeda K; Fukuda M; Tada M; Murata Y,** 2002. Negative correlation between the ratio of K<sup>+</sup> to Na<sup>+</sup> and proline accumulation in tobacco suspension cells. *Soil Science and Plant Nutrition* 48: 753-757

**Prasad MNV; Malec P; Waloszek A; Bojko M; Strzalka K,** 2001. Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (Duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation. *Plant Sci.* 161, 881-889.

**Puig S, Andres-Colas N, Garcia-Molina A and Penarrubia L** (2007) Copper and iron homeostasis in Arabidopsis: response to metal deficiencies, interactions and biotechnological applications. *Plant Cell and Environment* 30, 271–290

**Reuter D. J., Robinson J. B.,** 1997. *Plant analysis: an interpretation manual*. CSIRO publishing, Australia, 572 p.

**Robert, M. and Juste, C.** (1999). Dynamique des éléments traces de l'écosystème sol. In Club CRIN Environnement et Ministère de l'environnement. Spéciation des métaux dans le sol. Paris: CRIN.

**Sancenon V, Puig S, Mateu-Andres I, Dorcey E, Thiele DJ and Penarrubia L** (2004) The Arabidopsis copper transporter COPT1 functions in root elongation and pollen development. *Journal of Biological Chemistry* 279, 15348–15355

**Sheldon AR and Menzies NW** (2005) The effect of copper toxicity on the growth and root morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered solution culture. *Plant and Soil* 278, 341–349

---

**Thomé OW**, 1885. Flora von Deutschland, Osterreich und der Schweiz Gera, Germany

**Thornton, I.**, 1981. Geochemical aspects of the distribution and forms of the heavy metals in soils. In : «Effect of heavy metal pollution on plants metal in the environment. Leep, N.W. Applied Sci. Publ. London and New Jersey, 2 : 1-34.

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

**Verbruggen N; Hermans C; Schat H**, 2009. Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist* 181: 759-776.

**Vinit-Dunand F; Epron D; Alaoui-Sosse B; Badot PM**; 2002. Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. *Plant Science* 163,53-58.

**von Wirén N, Marschner H and Römheld V** (1995) Uptake kinetics of iron-phytosiderophores in two maize genotypes differing in iron efficiency. *Physiologia Plantarum* 93, 611–616

**Wang H-F, Zong X-X, Guan J-P, Yang T, Ma Y, Redden R** (2012). Genetic diversity and relationship of global faba bean (*Vicia faba* L. ) germplasm revealed bay ISSR markers. *Theor Appl Genet.* 124: 789-797

**Wang J, W. Li, C. Zhang and S. Ke**, "Physiological responses and detoxific mechanisms to Pb, Zn, Cu and Cd in young seedlings of *Paulownia fortunei*," *Journal of Environmental Sciences* 2010; 22(12):1916-1922

**Xuan Y, Scheuermann EB, Meda AR, Hayen H, von Wirén N and Weber G** (2006) Separation and identification of phytosiderophores and their metal complexes in plants by zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 1136, 73–81

**Yang X., Feng Y., He Z., Stoffella P. J.** 2005 Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18 : 339-353.

---

**Zoltán, S., Attila, D., Torsten, W. V., Sebastien, P., Jan, K., Szabolcs, L., Odblac, ssy, Mária, B., Chuan-Chou, S., et Ernst, H. (2009). "Bronze Age volcanic event recorded in stalagmites by combined isotope and trace element studies." Rapid Communications in Mass Spectrometry , 23(6), 801-808.**

# Annexes

- **Tableau n°1** : Analyse de la variance de Teneur en chlorophylle a

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
Var. totale	162,673	23	7,073		
Var. facteur 1	80,078	5	16,016	3,49	0,0222
Var. résiduelle 1	82,595	18	4,589		

- **Tableau 2:** Comparaison entre les moyennes et groupes homogène de Chlorophylle a

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
1.0	F1n1	10,227	A
5.0	F1n5	9,725	A
3.0	F1n3	8,924	A
2.0	F1n2	8,191	A
6.0	F1n6	5,674	A
4.0	F1n4	5,591	A

- **Tableau n°3** : Analyse de la variance de Teneur en chlorophylle b

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	238.36	23	10.364		
VAR.FACTEUR 1	97.043	5	19.409	2.472	0.07112
VAR.RESIDUELLE 1	141.317	18	7.851		

- **Tableau n°4:** Analyse de la variance de Teneur en eau relative

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	1572.433	23	68.367		
VAR.FACTEUR 1	492.754	5	98.551	1.643	0.19896
VAR.RESIDUELLE 1	1079.679	18	59.982		

- **Tableau n°5:** Analyse de la variance de Teneur en proline

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	31132.5	23	1353.587		
VAR.FACTEUR 1	21278.7	5	4255.74	7.774	0.00051
VAR.RESIDUELLE 1	9853.799	18	547.433		

- **Tableau n° 06:** Comparaison entre les moyennes et groupes homogène des teneurs en proline

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
6.0	F1n6	134.351	A	
5.0	F1n5	116.945	A	
2.0	F1n2	69.958		B
1.0	F1n1	63.969		B
3.0	F1n3	60.715		B
4.0	F1n4	60.35		B

- **Tableau n°7 :** Analyse de la variance de Poids sec de la racine

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	1.272	23	0.055		
VAR.FACTEUR 1	0.838	5	0.168	6.935	0.00095
VAR.RESIDUELLE 1	0.435	18	0.024		

**Tableau n° 08:** Comparaison entre les moyennes et groupes homogène des poids sec de la partie racinaire

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
3.0	F1n3	0.802	A	
4.0	F1n4	0.797	A	
1.0	F1n1	0.771	A	
2.0	F1n2	0.721	A	
5.0	F1n5	0.385		B
6.0	F1n6	0.375		B

- **Tableau n°9** : Analyse de la variance de Poids sec de la partie aérienne.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	46.618	23	2.027		
VAR.FACTEUR 1	11.478	5	2.296	1.176	0.35931
VAR.RESIDUELLE 1	35.14	18	1.952		

## Résumé :

Le cuivre est un oligoélément indispensable pour le développement des végétaux, grâce à son rôle important dans la physiologie des plantes. Il est considéré comme un métal lourd, toxique à forte concentration. Une contamination en Cu du sol entraîne une exposition des racines via la solution du sol et la phytotoxicité de Cu se traduit par une diminution de la biomasse des plantes. Son effet est plus important que la contamination est élevée.

L'objectif de travail consiste à suivre l'effet du cuivre sur quelques paramètres physiologiques de la fève (*Vicia faba* L.). Les plantes sont cultivées dans un substrat constitué d'un sol contaminé artificiellement par différentes doses de cuivre sous forme de  $Cu SO_4, 5H_2O$ , les doses retenues sont 0, 200, 400, 600, 800, 1000 ppm. Cette contamination est appliquée une fois dans le sol avant la plantation (durant le cycle végétatif de la plante). Le modèle végétal utilisé est une variété locale de la fève, Sidi Aïch.

Les résultats trouvés révèlent que la présence du cuivre entraîne une diminution des pigments photosynthétiques et une réduction des paramètres de la biomasse aérienne et souterraine accompagnée d'un abaissement de teneur relative en eau des feuilles. Ces résultats montrent également une accumulation croissante de la proline dans les feuilles en fonction des doses de cuivre et surtout dans la dose 1000 ppm.

Ces résultats indiquent que la présence de cuivre dans le sol à forte dose provoque une perturbation de développement des plantes sur le plan physiologique par la diminution de l'activité photosynthétique et le statut hydrique de la plante.

**Mots clé :** cuivre, *Vicia faba*, Sidi Aïch, sol, phytotoxicité, paramètres physiologiques, stress

## ملخص

النحاس هو عنصر أساسي لنمو النباتات نظرا لدوره الهام في فسيولوجيا النبات. و يعتبر من المعادن الثقيلة، السامة بتركيزات عالية. تلوث التربة بالنحاس يؤدي إلى تعرض الجذور إلى محلول التربة وينتج عنه تسمم للنبات و انخفاض في الكتلة الحيوية النباتية. أثره أكثر وضوح كلما كانت نسبة التلوث مرتفعة.

هدف العمل هو رصد تأثير النحاس على بعض القياسات الفسيولوجية للفاول (البليدي). تزرع النباتات في تربة ملوثة بشكل مصطنع عن طريق إضافة تراكيز مختلفة من النحاس على شكل  $Cu, SO_4 5H_2O$ ، حيث أن قيمة التراكيز هي 0، 200، 400، 600، 800، 1000ppm جزء في المليون. يتم تطبيق هذا التلوث مرة واحدة في التربة قبل الزراعة (خلال دورة النمو الخضري للنبات). النموذج النباتي المستخدم هي نوع محلي من الفول، سيدي عيش.

أظهرت النتائج أن وجود النحاس يؤدي إلى الحد من كمية أصباغ البناء الضوئي وانخفاض في الكتلة الحيوية للجذور وللمجموع الخضري للفاول يرافقه انخفاض المحتوى المائي النسبي للأوراق. تظهر هذه النتائج أيضا تراكم متزايد من البرولين في الأوراق نتيجة لتزايد تراكيز النحاس وخصوصا في التركيز 1000ppm جزء في المليون. وتشير هذه النتائج إلى أن وجود النحاس في التربة بتركيز عالية يؤدي إلى خلل في نمو النبات من الناحية الفسيولوجية من خلال انخفاض النشاط الضوئي والوضع المائي للنبات..

## Abstract

Copper is an essential oligoelement for the plants nutrition, phototoxic at very high concentration. The contamination of soil by copper is present when anthropogenic inputs are important. It means that when its content in soil is higher at pedogeochemical bottom, it causes an increase of impacts risks to the environment.

The phytotoxicity of copper is translated by a decrease of the total biomass of the plant and a disturbance of the mineral nutrition of the plants by the modification of the mineral elements concentration in the aerial and root parts.

The aim of our work is to follow the behavior of the bean (*Vicia faba* L) in front of the metallic stress induced by copper, by the evaluation of the effects procured by this stress on the morphological settings and on the mobility of the mineral elements  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{++}$  in different parts of the plant.

The study was conducted on variety of bean, Sidi Aich; the germinated seeds have been planted in pots containing soils contaminated by different concentrations of copper sulfate. (0, 200, 400, 600, 800, 1000 ppm).

The results show that the presence of copper at high concentrations causes a decrease of the morphological settings of bean and provokes modifications of the concentrations of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{++}$  in the different organs of the bean. These observations have been particularly reported on plants submitted to a dose of 1000 ppm.

**Key words** : phytotoxicity, copper, morphology, mobility,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ , *Vicia faba* L .