



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par : ABDELSADOK Nardjess

KAMMOUN Ikram

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: Biodiversité et environnement**

THÈME

Effet des métaux lourds (Cuivre et Zinc) sur les  
paramètres morfo-physiologiques et  
biochimiques chez la fève (*Vicia faba* L.)

Soutenue publiquement le 01 /07/2018

DEVANT LES JURYS

Présidente	Mme BELARBI Amaria (MCB)	Grade	U. Mostaganem
Directeur de mémoire	M.REGUIEG YASSAAD H.A (Professeur)	Grade	U. Mostaganem
Examinatrice	Mme OSMANE Badiiaa (Doctorante)	Grade	U. Mostaganem
Co-encadreur	Mme BOUKER Hadjira (Doctorante)	Grade	U. Mostaganem

*Thème réalisé au : Laboratoire de biodiversité et conservation des eaux et des sols, université de  
Mostaganem*

## Remerciement

Nos remerciements S'adressent tout d'abord à DIEU, le tout puissant qui nous a tracé le chemin de notre vie et accordé la volonté, la santé et la patience nécessaire à la réalisation de ce mémoire ;

Nous tenons à remercier en premier lieu notre encadreur M. Y.REGUIEG (Professeur) pour son aide précieuse et ces conseils judicieux.

Nous voudrions présenter nos remerciements à notre co-encadreur Mme. H.BOUKER (Doctorante) .

Nous voudrions également qu'elle témoigne de notre gratitude pour sa patience et son soutien qui nous a été précieux afin de mener notre travail à bon port.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Mme B.OSMANE (Doctorante) et Mme A. BELARBI (MCB) pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions.

Aux personnels du laboratoire pour leur aide.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# ***DEDICACE***

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

A mes frères SOFIANE, ABDELHADI et RACHID, sans oublié ma grand-mère, ma tante et toute ma famille que j'aime.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, N.BENAMAR, S.BOUCHEKHI et ma binôme N.ABDELSADOUK et tous mes collègues d'étude.

***KAMMOUN Ikram***

A decorative border in a light teal color, forming an oval shape. It features four ornate floral motifs at the corners, each with green leaves, yellow and red flowers, and a crescent moon. The word "Dédicace" is written in a stylized, multi-colored font in the center.

# Dédicace :

Je dédie ce travail à :

A ma très chère mère qui est la lumière de ma vie, qui m'a éclairé mon chemin

Et qui m'a encouragée et soutenue tout au long de mes études

Que dieu la présente une bonne santé et une longue vie.

A mes chers frères : Lamia et Sid Ali

Que dieu les protèges

**Nardjess**

## Liste des figures :

<b>Figure 1</b> : le tableau périodique .....	<b>3</b>
<b>Figure2</b> : Origine des métaux lourds dans le sol .....	<b>5</b>
<b>Figure3</b> : Coupe d'une racine.....	<b>9</b>
<b>Figure4</b> : Coupe longitudinale de la racine ; principaux tissus.....	<b>15</b>
<b>Figure 5</b> : a (aspect des fleurs et des feuilles de la fève <i>Vicia faba</i> L.), b (aspect des graines) c (aspect des gousses).....	<b>25</b>
<b>Figure 6</b> : Les différentes parties de la fève.....	<b>27</b>
<b>Figure 7</b> : La serre en verre de Mezaghran.....	<b>33</b>
<b>Figure 8</b> : graines de la fève ( <i>Vicia Faba</i> L.).....	<b>34</b>
<b>Figure 9</b> : plantules de la fève ( <i>Vicia Faba</i> L.).....	<b>34</b>
<b>Figure 10</b> : préparation du substrat de culture (lavage du sable).....	<b>10</b>
<b>Figure 11</b> : préparation du substrat de culture (sable+terreau).....	<b>36</b>
<b>Figure 12</b> : préparation des pots.....	<b>36</b>
<b>Figure 13</b> : repiquage de graines germées dans les pots.....	<b>37</b>
<b>Figure 14</b> : Schéma du dispositif expérimental.....	<b>39</b>
<b>Figure 15</b> : prélèvement des plantes de la fève ( <i>Vicia Faba</i> L.).....	<b>40</b>
<b>Figure 16</b> : Rinçage des plantes de la fève ( <i>Vicia Faba</i> L.) (Photo originale) avec l'eau de robinet.....	<b>40</b>
<b>Figure 17</b> : la teneur relative en eau (RWC).....	<b>41</b>
<b>Figure 18</b> : Effet du Cuivre ( $Cu\ SO_4$ ) sur la longueur des racines de ( <i>Vicia faba</i> L.) en fonction du temps.....	<b>43</b>
<b>Figure 19</b> : Effet du Zinc ( $Zn\ SO_4$ ) sur la longueur des racines de ( <i>Vicia faba</i> L.) en fonction du temps.....	<b>44</b>
<b>Figure 20</b> : Effet du Cuivre sur la teneur relative en eau (RWC%) de la plante ( <i>Vicia faba</i> L.).....	<b>45</b>
<b>Figure 21</b> : Effet du Zinc ( $Zn\ SO_4$ ) sur la teneur relative en eau (RWC%) de la plante ( <i>Vicia faba</i> L.).....	<b>46</b>

**Figure 22** : Effet du Cuivre ( $\text{Cu So}_4$ ) sur la teneur en proline de la plante (*Vicia faba L.*)....**47**

**Figure 23** : Effet du Zinc ( $\text{Zn So}_4$ ) sur la proline de la plante (*Vicia faba L.*).....**48**

**Liste des tableaux :**

<b>Tableau1</b> : contribution de différentes sources des ETM.....	4
<b>Tableau 2</b> : Aptitude d'accumulation de quelques plantes.....	10
<b>Tableau 3</b> : La production mondiale de fève.....	29
<b>Tableau 4</b> : Composition chimique moyenne pour 100 g de fève.....	31

### Introduction

La pollution de l'environnement constitue depuis les années 60 une préoccupation majeure de nos sociétés modernes. D'après (**Ramade, 1989 in Stengel et Gelin, 1998**) la pollution est une modification défavorable du milieu naturel. (**Mazoyer, 2002**) en modifie les composantes physiques, chimiques ou biologiques. (**Ramade, 1989 in Stengel et Gelin, 1998**). Elle représente un sérieux problème pour l'environnement à cause des rejets de nombreux produits chimiques dont des éléments métalliques rejetés par les industries, l'agriculture et les communautés urbaines.

Parmi les différents types de pollution (organique /ou minéral) le problème due aux métaux lourds (**association Ecrin, 1999**) qui ont une importance de plus en plus grande sur les plans environnemental, sanitaire et économique. Cette pollution peut avoir un impact soit direct ou indirect, sur la santé humaine et l'équilibre des écosystèmes aussi bien marins que continentaux. La qualité des sols peut également en être altérée (**MBONIGABA et al ., 2009**)

La pollution du sol par les métaux lourds est l'un des problèmes actuels dont la gravité augmente avec le développement industriel. Contrairement aux polluants organiques susceptibles de se dégrader, les éléments traces métalliques peuvent être nocifs pour tous les écosystèmes à cause de leurs stabilités et de leurs persistances dans la nature. la présence des métaux lourds dans les sols est particulièrement problématique en raison de leur non-biodégradabilité par rapport à une partie de la pollution organique et leur toxicité (**association Ecrin, 1999**). Si certains métaux lourds sont essentiels à la vie (comme le Cuivre : qui est une substance très connue qui est naturellement présente dans l'environnement et se diffuse dans l'environnement par des phénomènes naturels. Des 1930, le cuivre est reconnu comme élément trace essentiel pour les végétaux (**Alloway B.J., 1995**) Il joue un rôle important dans divers processus métaboliques, en participant à la constitution de différentes protéines (**Marschner H., 1995**)(la plastocyanine pour la photosynthèse ; et le Zinc : qui est aussi un élément trace essentiel pour les végétaux , l'homme et l'animal ,il est contenu dans certaines enzymes et il est indispensable pour beaucoup de processus biologiques et biochimiques à faible concentration,. Le Cuivre et le Zinc sont toxique à fortes doses alors que d'autres sont toxiques même à faibles doses (Plomb, Cadmium).

Dans le domaine agricole L'agriculture moderne représente une importante source de pollution de l'espace rural mais aussi des milieux intégrés par l'homme. L'usage massif des engrais chimiques, le recours systématique aux pesticides ont permis une augmentation considérable des rendements agricoles. Ils se sont malheureusement accompagnés d'une pollution accrue des eaux continentales, des terres cultivées, ainsi que des productions végétales et animales par divers contaminants minéraux ou organiques. La plupart des éléments traces métalliques accumulés dans le sol sont absorbés par les plantes de culture. les végétaux ont besoins pour leur croissance et leur développement de certains ions métalliques comme le Cuivre et le Zinc qui entrent dans la composition de certains enzymes ou servent de cofacteurs.

Le mécanisme de réponse des plantes à la toxicité métallique restent compliqués (**Briat et Lebrun, 1999**). Certaines plantes sont très sensibles à cette toxicité comme la fève

## Introduction

---

(**Vicia faba L.**) qui est une légumineuse fait partie de nos systèmes agraires depuis longtemps elle occupe la première place parmi les légumineuses en Algérie en raison de sa valeur nutritionnelle élevés et de divers usages ainsi la fève c'est une plante model dans le domaine agricole elle a un rôle important dans l'économie nationale et dans la production agricole (**Aouar-Sadli et al. 2008**)

L'objectif de notre travail est la plantation de la fève (*Vicia faba L.*) dans un sol enrichi en métaux lourds (Cuivre et Zinc) ; afin de déterminer les différents effets du stress métallique sur la plante aux différentes doses par l'analyse des paramètres biochimiques et morpho-physiologiques.

Ce mémoire fait l'objet d'une présentation en deux parties :

La première partie :

Chapitre 1 : Une synthèse bibliographique qui retrace les connaissances actuelles sur les métaux lourds et leurs effets sur le sol et la plante.

Chapitre 2 : une synthèse bibliographie sur la plante *Vicia faba L.*

Et la deuxième partie c'est la partie expérimentale : matériel et méthode où sont décrits le matériel végétal utilisé, le protocole expérimental et les techniques d'analyse. Ainsi les résultats obtenus.

Nous concluons notre travail par une discussion générale et une conclusion.

**La liste des abréviations :**

**Cu** : cuivre

**Zn**: zinc

**Pb**: plomb

Mn: manganese

**Hg**: mercure

**Cd**: cadmium

**Fe**: fer

**As**: arsenic

**Cr**: chrome

**Sb** : antimoine

**Ti** : titane

**Mo** : molybdène

**Ni**: nickel

**V**: vanadium

**Co**: cobalt

**ETM** : élément trace métallique

**P** : probabilité

**Chlr** : chlorophylle

**G** : gramme

**Cm** : centimètre

**Kg** : kilo gramme

**K+** : potassium

**L** : litre

**pH** : potentiel hydrogène

**ppm** : partie par million

**MS** : matière sèche

**Mf** : matière fraîche

**ATP** : adénosine triphosphate

**µg** : microgramme

**Mn** : minute

**C°** : degré celsius

**V** : volume

**Hcl** : acide chlorhydrique

**RWC** : teneur relative en eau

**Pf** : poids frais

**Ps** : poids sec

**Nm** : nanomètre

# Chapitre I

## Métaux lourds

I. Métaux lourds

I-1 Définition :

Tout métal ayant un numéro atomique élevé, en général supérieur à celui du Sodium (Z=11), tout métal pouvant être toxique pour les systèmes biologiques. (B.V. Rotterdamseweg ,Water Treatment et Purification,1999)

Un métal est un élément chimique dont la masse volumique dépasse 5 g/cm<sup>3</sup>, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, se combinant aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisés par l'homme depuis l'Antiquité. Dans le sol, un métal sera défini comme un élément chimique qui peut former des liaisons métalliques et perdre des électrons pour former des cations. Ceux-ci sont présents le plus souvent dans l'environnement sous forme de traces : Mercure, Plomb, Cadmium, Cuivre, Arsenic, Nickel, Zinc, Cobalt, Manganèse. Les plus toxiques d'entre eux sont le Plomb, le Cadmium et le Mercure. (LACOUÉ-LABARTHE, Thomas..2007.)

En effet, à coté des formes minérales les plus simples (exemple : Pb<sup>2+</sup>), les métaux lourds peuvent aussi exister sous forme organique, c'est-à-dire combinés à un atome de carbone (exemple : le plomb tétraéthyl des essences) mais aussi sous forme de complexes (exemple : le salicylate de plomb, provenant de la complexation du plomb avec une substance humique des sols) ou encore sous forme de chélates. Toutes ces formes, même si elles sont présentes en quantité minime, et quelles que soient les transformations qu'elles subissent lors de leur cheminement dans l'environnement, doivent être prises en compte lorsque l'on étudie les métaux lourds et ceci confère à ce sujet toute sa complexité. L'étude de toutes ces formes de métaux lourds constitue une discipline à part entière, connue actuellement sous le terme d'étude de la spéciation des métaux lourds (M. Di Benedetto, 1997.).

**Tableau périodique des éléments**

Le tableau périodique des éléments est présenté avec les masses atomiques et les électronégativités de Pauling indiquées dans les cellules. Les éléments sont classés par numéros atomiques croissants. Les éléments les plus lourds (à droite et en bas) sont généralement colorés en bleu ou vert dans l'image.

1 H 1,008 2,1																	2 He 4,00
3 Li 6,94 1,0	4 Be 9,01 1,5											5 B 10,81 2,0	6 C 12,01 2,5	7 N 14,01 3,0	8 O 16,00 3,5	9 F 19,00 4,0	10 Ne 20,18
11 Na 22,99 0,9	12 Mg 24,31 1,2											13 Al 26,98 1,5	14 Si 28,09 1,8	15 P 30,97 2,1	16 S 32,06 2,5	17 Cl 35,45 3,0	18 Ar 39,95
19 K 39,10 0,8	20 Ca 40,08 1,0	21 Sc 44,96 1,3	22 Ti 47,87 1,5	23 V 50,94 1,6	24 Cr 52,00 1,6	25 Mn 54,94 1,5	26 Fe 55,85 1,8	27 Co 58,93 1,8	28 Ni 58,69 1,8	29 Cu 63,55 1,9	30 Zn 65,38 1,6	31 Ga 69,72 1,6	32 Ge 72,63 1,8	33 As 74,92 2,0	34 Se 78,96 2,4	35 Br 79,90 2,8	36 Kr 83,80
37 Rb 85,47 0,8	38 Sr 87,62 1,0	39 Y 88,91 1,2	40 Zr 91,22 1,4	41 Nb 92,91 1,6	42 Mo 95,96 1,8	43 Tc [98]	44 Ru 101,07 1,9	45 Rh 102,91 2,2	46 Pd 106,42 2,2	47 Ag 107,87 1,9	48 Cd 112,41 1,7	49 In 114,82 1,7	50 Sn 118,71 1,8	51 Sb 121,76 1,9	52 Te 127,60 2,1	53 I 126,90 2,5	54 Xe 131,29
55 Cs 132,91 0,7	56 Ba 137,33 0,9	57-71	72 Hf 178,49 1,3	73 Ta 180,95 1,5	74 W 183,84 1,7	75 Re 186,21 1,9	76 Os 190,23 2,2	77 Ir 192,22 2,2	78 Pt 195,08 2,2	79 Au 196,97 2,4	80 Hg 200,59 1,9	81 Tl 204,38 1,8	82 Pb 207,2 1,9	83 Bi 208,98 1,9	84 Po [209]	85 At [210]	86 Rn [222]
87 Fr [223]	88 Ra [226]	89-103	104 Rf [267]	105 Db [268]	106 Sg [271]	107 Bh [272]	108 Hs [277]	109 Mt [276]	110 Ds [281]	111 Rg [280]	112 Cn [285]	113 Nh [286]	114 Fl [289]	115 Mc [288]	116 Lv [293]	117 Ts [294]	118 Og [294]
57 La 138,91 1,1	58 Ce 140,12 1,1	59 Pr 140,91 1,1	60 Nd 144,24 1,1	61 Pm [145]	62 Sm 150,36 1,2	63 Eu 151,96 1,1	64 Gd 157,25 1,2	65 Tb 158,93 1,2	66 Dy 162,50 1,2	67 Ho 164,93 1,2	68 Er 167,26 1,2	69 Tm 168,93 1,2	70 Yb 173,05 1,2	71 Lu 174,97 1,3			
89 Ac [227]	90 Th 232,04 1,3	91 Pa 231,04 1,5	92 U 238,03 1,7	93 Np [237]	94 Pu [244]	95 Am [243]	96 Cm [247]	97 Bk [247]	98 Cf [251]	99 Es [252]	100 Fm [257]	101 Md [258]	102 No [259]	103 Lr [262]			

© 2016, Clovis Darrigan - Anima-Science / www.darrigan.net - www.anima-science.fr

Figure 1- le tableau périodique (<http://wiki.scienceamusante.net/index.>)

## I-2 Les sources de métaux lourds :

Les ETM présents dans les sols peuvent être classés dans deux groupes : les fonds géochimiques et les apports anthropiques

Les métaux lourds sont redistribués naturellement dans l'environnement par les processus géologiques et les cycles biologiques. Les activités industrielles et technologiques diminuent cependant le temps de résidence des métaux dans les roches, ils forment de nouveaux composés métalliques, introduisent les métaux dans l'atmosphère par la combustion de produits fossilifères. Il faut différencier la part qui résulte de la contamination d'origine humaine (anthropogène) et la part naturelle (géogène) (**Krupka. KM.1999.**)

### I-2-1 Les sources naturelles :

Le fond pédogéochimique naturel (FPGN) est la concentration d'un élément chimique dans un sol (que ce soit un élément majeur ou un ETM) résultant des évolutions naturelles, géologiques et pédologiques, en dehors de tout apport d'origine humaine (**Baize, D., 1997.**)

les ETM peuvent être naturels, le sol contient des ETM issus de dégradation et altération la roche mère à partir de laquelle il s'est formé ou par des apports sédimentaires. Les sols formés sur des sables quartzeux contiennent des quantités d'ETM extrêmement faibles, alors que ceux qui sont formés sur des sédiments calcaires ou marneux, ou des schistes, ont des concentrations d'ETM plus importantes (**SPOSITO, 1989.**)

### I-2-2 Les sources anthropiques :

La quantité d'ETM issue des apports anthropiques est également très importante. D'après (**ROBERT et JUSTE (1999)**), la principale source d'ETM dans les zones urbaines est l'activité industrielle et la circulation de différents moyens de transport. Les principales sources industrielles d'émissions atmosphériques de micropolluants métalliques sont les usines d'incinération, les hauts fourneaux, la combustion du charbon et du pétrole. L'utilisation de matières fertilisantes et de pesticides ont contribué, ou contribuent encore, de manière importante à la contamination des sols agricoles, ainsi que l'épandage des déchets et des boues. (**MATTHIESSEN et al., 1999.**)

**Tableau1** : contribution de différentes sources des ETM (**G. Miquel. 2001**) :

	Cuivre	Zinc	Cadmium	Plomb
Total (milliers de tonnes)	216	760	20	382
Déchets agricoles	55%	61%	20%	12%
Déchets urbains	28%	20%	38%	19%
Engrais	1%	1%	2%	1%
Retombées atmosphériques	16%	18%	40%	68%

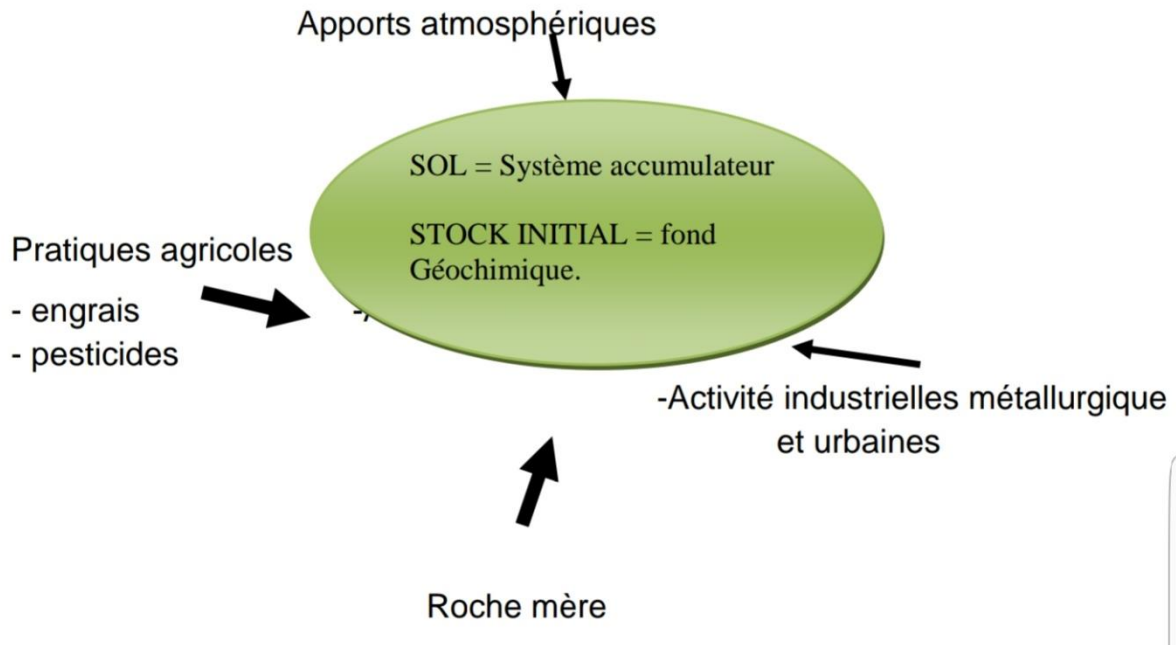


Figure 2 : Origine des métaux lourds dans le sol (Robert, M., Juste, C. (1999))

### I-3 Persistance et vieillissement d'une contamination métallique :

Une des particularités fondamentales des métaux provient du fait qu'ils ne sont pas biodégradés par les organismes vivants ce qui implique que la concentration métallique totale persiste et s'accumule dans le temps tant que la source d'émission perdure. Cependant, plusieurs études ont montré que la concentration du métal biodisponible, c'est-à-dire la concentration du métal accessible aux organismes vivants et donc potentiellement toxique, diminue dans le temps (Lock & Janssen, 2003; Mertens et al., 2007b; Kim et al., 2008; Lamb et al., 2009; Smolders et al., 2009). Ce phénomène est connu sous le nom de vieillissement de la contamination métallique (ageing) et est dû aux interactions physico-chimiques dynamiques entre le sol, la solution du sol et le métal.

### I-4 La spéciation des métaux dans les sols :

La 'spéciation' d'un métal est défini comme la distribution d'un élément au travers les différentes espèces chimiques métalliques (par exemple, selon la composition isotopique ou la structure moléculaire de l'élément) et est souvent confondue avec le 'fractionnement', défini comme la classification d'un élément à partir de ses propriétés physiques ou chimiques (par exemple, par la solubilité ou la réactivité de l'élément) (Templeton et al., 2000). D'après (Deneux-Mustin et al., 2003) Les éléments sont rarement présents à l'état libre dans la solution du sol, qui contient de nombreux ligands inorganiques et organiques d'origine naturelle ou anthropique pouvant former des complexes. De ce fait, les éléments solubles subissent des transformations chimiques qui dépendent de leur réactivité propre, de la forme sous laquelle ils sont introduits et, des propriétés physico-chimiques du sol. Il convient d'envisager aussi les processus biologiques (essentiellement microbiens) qui catalysent, orientent et contrôlent la plupart des processus physicochimiques dans les sols. Les métaux

qui arrivent au sol peuvent être distribués entre les différents compartiments du sol (dissous et solides) (**Le coz et al., 1996**) :

Adsorbés à la surface des minéraux argileux, oxydes de fer et manganèse, et à la matière organique.

Présents dans le réseau des minéraux secondaires comme carbonates et sulfates. - Occlus dans des matériaux amorphes comme les oxyhydroxydes de fer et manganèse, sulfures de fer et débris organiques.

Présents dans les réseaux des minéraux primaires. Dans les sols, les éléments peuvent être présents sous différents statuts chimiques : forme ionique hydratée, forme complexée avec les ligands organiques ou inorganiques (**DeneuxMustin et al., 2003**).

### **I-5-Les différents types de métaux lourds :**

#### **I-5-1-Les métaux essentiels :**

Les métaux essentiels sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires. Ils se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques. Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du fer (Fe), ... (**Behanzin et al., 2015**). Par exemple, le zinc (Zn), à la concentration du millimolaire, est un oligo-élément qui intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques (déshydrogénase, protéinase, peptidase) et joue un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides. A forte dose il devient toxique, en empêchant de nombreuses fonctions métaboliques des plantes. Cela se traduit par un retard de croissance et même une sénescence (**KabataPendias and Pendias, 2001**).

#### **I-5-2-Les métaux non essentiels :**

Les métaux non essentiels ont un caractère polluant. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. Ils exercent des effets toxiques sur les organismes vivants même à faible concentration.. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg), du cadmium (Cd), ... (**Baker and Walker, 1990; Behanzin et al., 2015**).

### **I-6-Rôle des Métaux lourds :**

Les métaux présents dans l'eau et l'environnement terrestre sont des éléments nécessaires au fonctionnement normal des plantes et des animaux. Ils jouent un rôle important dans (**Verbanck in Guemaz, 2006**) : -La transformation de la matière, principalement dans les mécanismes enzymatiques. -Aussi (**Stengel et Gelin, 1998**) du fait de leur toxicité, ils sont également employés, ou l'ont été, pour la protection des cultures (pesticides), dans des peintures de coques de bateaux, etc.

**I-7-Les métaux lourds oligo-élément ou élément toxique :**

Certains éléments métalliques, comme le cuivre, le zinc, le fer et le sélénium, sont indispensables pour la vie biologique (MATTHIESSEN et al., 1999). Ces oligo-éléments ont une fonction biologique bien reconnue dans de faible quantité, mais avec l'augmentation de leur concentration, ils deviennent toxiques. Comme certains ne sont pas nécessaires pour les organismes et ils peuvent produire des effets toxiques, même à très faible concentration. Comme par exemple le plomb, le mercure et le cadmium. Les éléments traces métalliques sont présents dans les sols sous différents états. La quantité existante dans la solution du sol représente normalement un infime pourcentage de sa totalité (JUSTE, 1995). Les métaux se concentrent donc dans le sol où ils se répartissent dans les différentes fractions organiques et minérales.

Selon (SPOSITO 1989), dans le sol, la concentration en ETM varie avec la profondeur. Les ETM issus d'apports extérieurs vont s'accumuler en surface du sol, leur concentration va donc décroître avec la profondeur. Au contraire, dans le cas de sols formés à partir de roches mères, particulièrement riches en éléments métalliques, la teneur en ETM accroît avec la profondeur.

**I-7-1-La toxicité des métaux lourds :**

Les métaux sont généralement séparés en deux catégories selon leur caractère essentiel ou non pour les êtres vivants. En effet, ils peuvent s'avérer indispensables au déroulement des processus biologiques (oligo-éléments), c'est le cas du Fer (Fe), du Cuivre (Cu), du Zinc (Zn), du Nickel (Ni), du Cobalt (Co), du Vanadium (V), du Sélénium (Se), du Molybdène (Mo), du Manganèse (Mn), du Chrome (Cr), de l'Arsenic (As) et du Titane (Ti). Dans ce cas, leurs concentrations dans les organismes doivent répondre aux besoins métaboliques de ces derniers. Dans le cas contraire, une carence ou un excès de ces éléments essentiels peut induire des effets délétères. D'autres ne sont pas nécessaires à la vie, et peuvent être même préjudiciables comme le Mercure (Hg), le Plomb (Pb), le Cadmium (Cd) et l'Antimoine (Sb). (CASAS, Stello.2005)

La toxicité des métaux lourds est due essentiellement à :

- Leur non-dégradabilité.
- leur toxicité à faible concentration.
- Leur tendance à s'accumuler dans les organismes vivants et à se concentrer le long des chaînes trophiques (Crine M, (1993).

La toxicité d'un élément métallique dans l'environnement dépend de sa forme chimique. L'une des caractéristiques de la toxicité des métaux est leur pouvoir de former des complexes (Morgan J. J. and Stumm .1991). La disponibilité et la toxicité dépendent de la concentration des ions libres de l'élément, ainsi que de la concentration totale du métal ou de celle du complexe du métal (Sanders B .and all.1983).

**I-8-Les métaux lourds dans la plante :**

Parmi les métaux lourds indispensables aux processus physiologiques majeurs, en particulier la respiration, la photosynthèse ou l'assimilation des macronutriments (e.g. azote, soufre... ; **(Kabata-Pendias and Pendias, 2001)**). Nombre de ces métaux, Cu, Zn, Ni, Fe, Co, Se et Ba sont aussi impliqués au niveau de processus moléculaires tels que le contrôle de l'expression des gènes ; la biosynthèse des protéines, des acides nucléiques, des substances de croissance, de la chlorophylle et des métabolites secondaires ; le métabolisme lipidique ou la tolérance au stress **(Rengel, 1999)**.

En outre, certains éléments trace peuvent se présenter sous différents états d'oxydation (e.g.  $\text{Cu}^{2+} + e \text{Cu}^+$ ). Ils jouent ainsi un rôle d'accepteurs ou de donneurs d'électrons, très important dans les multiples systèmes enzymatiques mettant en jeu des réactions d'oxydoréduction **(Chaignon, 2001)**.

Pour autant, les métaux lourds n'ont pas tous une fonction connue à ce jour dans le métabolisme de la plante, et malgré la grande diversité des besoins et des niveaux de tolérance aux métaux lourds chez les plantes, certains restent considérés comme un élément toxique pour la cellule dont les doses admissibles sont très faibles. Parmi les métaux les plus toxiques, Hg, Cr, Ni, Pb et Cd **(Kabata-Pendias and Pendias, 2001)**.

**I-8-1-L'absorption des métaux lourds :**

La voie principale d'absorption des métaux se fait par simple diffusion au travers de l'apoplaste du cortex racinaire et de l'endoderme (voie apoplastique). Le transport des éléments métalliques à travers la paroi cellulaire se fait passivement (non métabolique et donc dans le sens du gradient de concentration) par les pores du réseau de la cellulose, de l'hémicellulose et des glycoprotéines. Cependant, une partie des ions peut être adsorbés par les charges négatives de surface de l'acide polygalacturonique des pectines, qui agissent comme des échangeurs d'ions **(Briat et Lebrun, 1999)**. Puis au niveau de l'endoderme, le transport peut devenir actif au niveau de la membrane plasmique des cellules de la bande de Caspary (voie symplastique), autorisant cette fois un transfert contre le gradient de concentration. Cependant, les mécanismes exacts de l'absorption sont encore mal connus, en particulier pour certains éléments comme le Cu **(Greger, 1999 ; Chaignon, 2001)**, et diffèrent selon l'espèce métallique. On considère de nos jours que le plomb et le nickel sont absorbés passivement via certaines protéines de type porine, alors que le zinc et le cuivre sont absorbés activement par une protéine de transport sélective, nécessitant de l'énergie **(Kabata-Pendias and Pendias, 2001)**.

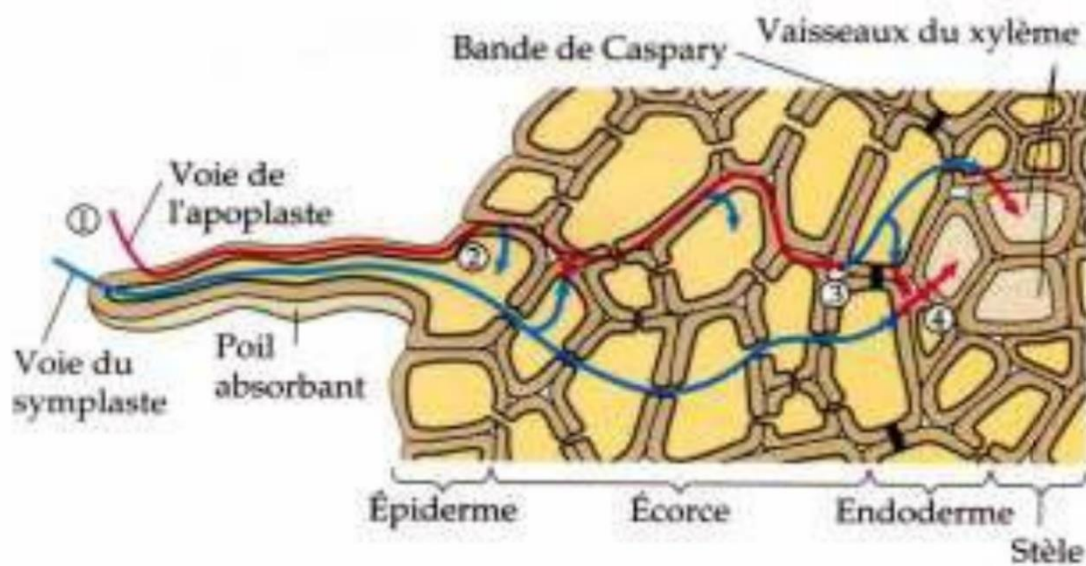


Figure 3 : Coupe d'une racine (ADEME.1990)

#### I-8-2-La translocation :

Après leur absorption, le transport des éléments dans le xylème de la plante vers les parties aériennes, appelé « translocation », peut nécessiter ou non la prise en charge des éléments par des agents complexants, tels que les acides organiques, les acides aminés et divers peptides : le fer est pris en charge par le citrate ; le zinc peut être transporté par un complexe anionique (Alloway,1995) ; la majorité du cuivre et une partie du nickel sont chélatées par un acide polyaminopolycarboxylique encore non identifié chez la tomate (Foy et al., 1978) ; le cadmium est transporté sous forme libre (Greger, 1999). Chez certaines espèces la translocation d'éléments toxiques est plus importante que chez d'autres, pouvant conduire à une accumulation des métaux dans les feuilles et les autres parties aériennes, sans que l'on sache avec rigueur si elle est due à un transport plus actif ou une absence d'immobilisation dans les racines (Foy et al., 1978). Le transport des éléments toxiques par le phloème est moins évident du fait que les cellules qui le constituent sont vivantes et forment un piège supplémentaire (Greger, 1999). Toutefois, chez certaines plantes, la nicotianamine, dérivée de la méthionine, pourrait être responsable du transport des métaux, Fe, Cu, Zn et Mn, dans la sève du phloème (Briat et Lebrun, 1999).

**Tableau 2:** Aptitude d'accumulation de quelques plantes (ADEME.1990) :

Plantes	Cadmium	Zinc	Cuivre	Nickel	Plomb
Fortement accumulatrices	Carotte, laitue, épinard		Carotte	Chou	-
Moyennement accumulatrices	Chou, céleri	Maïs, betterave	Laitue, betterave	Betterave	-
Faiblement accumulatrices	Betterave, poireau	Céréales, poireaux	Pommes de terre, chou, épinard	Céréales, maïs, pommes de terre	
Très faiblement accumulatrices	Céréales, maïs	Pommes de terre	Pommes de terre		toutes espèces

## II. Le cuivre :

### II-1-Définition :

La teneur moyenne de cuivre dans les végétaux est généralement inférieure à 20  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  MS (Kabata-Pendias et Pendias, 1992). En deçà d'une concentration de 2 à 5  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  MS dans les parties végétatives. Le cuivre est de couleur rougeâtre ou rouge lorsqu'une plaque de ce métal est bien décapée.

Le cuivre est un élément métallique de symbole Cu; il appartient au groupe (IB) de la classification périodique des éléments. (R. prunet, D. Bourdinet D. Prevotau.. Edition 1996)

Les formes du cuivre les plus couramment trouvées dans la nature sont les sulfites (chalcopyrite  $\text{CuFeS}_2$ ), les hydroxocarbonates (malachite  $\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$  et azurite  $\text{Cu}_3(\text{OH})_2(\text{CO}_3)_2$ ) et les oxydes (ténorite  $\text{CuO}$ ).

C'est un métal rouge orange, brillant, noble, peu oxydable et susceptible d'un très beau poli.

( R. prunet, D. Bourdinet D. Prevotau.. Edition 1996).

Le cuivre possède seulement deux isotopes stables dont les masses et abondances naturelles sont :  $^{63}\text{Cu}$  (69,17 %) et  $^{65}\text{Cu}$  (30,83 %). Il est essentiellement présent sous forme cuprique ( $\text{Cu}^{2+}$ ) dans le corps humain mais également présent à l'état  $\text{Cu}^+$  [Linder et Hazegh-Azam, 1996]

Cuivre sont les déchets agricoles (55%) suivies par les déchets urbains (28%) et les retombées atmosphériques (16%) (FEIX, 1998). Le cuivre est, dans de petites quantités, indispensable pour tous les organismes, mais avec l'augmentation de sa concentration il

devient toxique. Le cuivre est cumulé dans la cellule, qui augmente la production de protéines capables de séquestrer le métal contribuant ainsi à la détoxification (**MATTHIESSEN et al., 1999, EINICKER-LAMAS et al., 2002**). Ces protéines spécifiques sont donc un bon indicateur de l'exposition au métal. Un seuil de concentration du cuivre recevable par les sols est difficile à déterminer car sa toxicité dépend de sa spéciation en solution. On considère l'ion libre  $\text{Cu}^{2+}$  et les hydroxocomplexes comme les formes les plus toxiques. Par contre, les complexes avec les carbonates ou avec la matière organique sont considérés peu toxiques (**PITTER, 1999**). En général, il est admis qu'il n'y a pas de relation directe entre la teneur totale du cuivre et le cuivre biodisponible (toxique).

### II-2-Le cuivre oligo-élément :

Le cuivre est un oligo-élément indispensable à la vie biologique (hommes, plantes, animaux, microorganismes). Le corps humain contient du cuivre à une concentration de 1,4 à 2,1 mg par kg. On trouve du cuivre dans le foie, les muscles et les os. Le cuivre est transporté par la circulation sanguine au moyen d'une protéine nommée céruléoplasmine. (**J, E Greedon.1994**)

Le cuivre est un oligo-élément dont le caractère indispensable à la vie des plantes est admis par tous depuis fort longtemps (**Mc Hargue, 1925; Sommer, 1931; Lipman et Mac Kinney, 1931**),

Aussi le cuivre est utilisé par l'ensemble des organismes vivants Comme un cofacteur enzymatique dans la chaîne de transport des électrons qui conduit au stockage d'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) (**Sarkar 1999**). Il possède des caractéristiques fongiques. La bouillie bordelaise, mélange de sulfate de cuivre hydraté et de chaux, est depuis sa découverte à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle le principal fongicide contre le mildiou de la vigne. Il entre également dans la composition des peintures antifouling utilisées pour prévenir la fixation des algues sur les coques de bateaux. (**Flemming et Trevors 1989**).

### II-3-Utilisation du cuivre :

Les principaux gisements de cuivre actuels sont au Chili, en Indonésie, aux Etats-Unis, en Australie et au Canada (80% de la quantité mondiale). Le cuivre s'y trouve généralement sous forme de sulfures (e.g. la chalcopyrite  $\text{CuFeS}_2$  et la chalcocite  $\text{Cu}_2\text{S}$ ). La production mondiale de cuivre est de l'ordre de 15 MT/an et les réserves exploitables connues sont de 300 MT environ (**Emsley, J. (2003)**). La production mondiale annuelle du cuivre (15 millions de tonnes) en fait le troisième métal le plus consommé dans le monde, derrière l'acier et l'aluminium (**CIC ; 2004**).

Les propriétés du cuivre (haute conductibilité électrique, résistance à la corrosion) font de ce métal une ressource naturelle très utilisée. Dans l'électricité, l'électronique, les télécommunications (réseaux câblés, microprocesseurs, batteries), dans la construction (tuyauterie d'eau, couverture), dans l'architecture, les transports (composants électromécaniques, refroidisseurs d'huile, réservoirs, hélices), les machines-outils, des produits

d'équipement (plateformes pétrolières) et de consommation (ustensiles de cuisine) mais aussi des pièces de monnaie comme l'euro (**Jennifer S pero, et all 2000**).

Ainsi dans les alliages tels le laiton (zinc et Cuivre), le bronze (cuivre et étain) ainsi que le maillechort (cuivre, zinc et nickel). Certains composés du cuivre servent comme pesticides; le sulfate de cuivre est utilisé pour détruire les algues et la vie microbienne dans les réservoirs d'eau et comme fongicide dans les préservatifs du bois (**Nriagu ; 1979a**)

#### **II-4-La toxicité du cuivre :**

Le maximum, rencontré dans les plantes, est de 15ppm. Le cuivre représente un danger quand il est présent en concentration élevée dans l'environnement. Par son action sur les racines des plantes, le cuivre altère leur développement et la perméabilité de leur membrane cellulaire causant le lessivage de certains ions ( $K^+$  ;  $PO_4^{3-}$ ) Il en résulte des effets toxiques sur les plantes et des baisses de rendement. Le signe le plus net du Cu est l'induction des symptômes de la chlorose FE donc la croissance est réduite et plus précisément celles des racines, moins ramifiées avec des radicelles de couleur foncé (**Loué,1993**).les teneurs totales en  $Cu \leq 7ppm$  entraînent des carences cupriques et en revanche des toxicités apparaissent au-delà de 180ppm. Chez l'homme, des symptômes de toxicité aiguë se manifestent par des diarrhées, nausées, vomissements, irritations intestinales. 1gramme de  $CuSO_4$  constitue une dose mortelle ; pour plus de 44 mg/l d'eau de boisson, il y a manifestation de gastro-entérites (**Dhaou-El-Djabine K.(2005)**).

#### **II-5-Le rôle physiologique du cuivre :**

Dès 1930, le cuivre est reconnu comme élément trace essentiel pour les végétaux (**Alloway, 1995**). Il joue un rôle important dans divers processus métaboliques, en participant à la constitution de différentes protéines (**Marschner, 1995**) :

- à plastocyanine pour la photosynthèse ;
- les superoxydes dismutases pour la lutte contre le stress oxydant ;
- les peroxydases pour la lignification ;
- les oxydases pour l'oxydation de composés tels que les ascorbates, les diamines, les phénols
- les cytochromes oxydases pour la respiration cellulaire. De plus, le cuivre joue également un rôle sur la viabilité des pollens (**Loué, 1993**).

Aussi Le cuivre intervient dans de nombreuses fonctions physiologiques : croissance du fœtus et du nouveau-né, synthèse de l'hémoglobine, développement des tissus de connexion en particulier dans le système cardiovasculaire et dans les os, ainsi que dans les processus inflammatoires. Le cuivre est ainsi impliqué dans de nombreuses fonctions biochimiques. De façon générale, in vivo, il est essentiellement lié à des cuproprotéines lui permettant d'exprimer ses fonctions physiologiques dont le principale est sans doute la protection contre les stress oxydants.. Le maintien des fonctions immunitaires et l'implication

dans la chaîne respiratoire cellulaire sont également des fonctions physiologiques primordiales du cuivre. (**Jondreville et al. (2003) et Revy et al. (2004)**)

## II-6- Le cuivre dans le sol :

### II-6-1-Le fond pédogéochimique et source de contamination du sol :

Le fond pédogéochimique moyen de cuivre (Cu) s'élève à 15-30 mg kg<sup>-1</sup> (**Baker et Senft 1995 ; Baize et Tercé 2002 ; Adriano 2001**). Des émissions naturelles de Cu dans l'atmosphère provenant de poussières et d'aérosols produits par l'érosion éolienne, les éruptions volcaniques, les sels marins et les feux de forêts peuvent parvenir aux sols et modifier leurs teneurs en Cu (**Bourelrier et Berthelin 1998 ; Cetois et al. 2003**).

Certaines activités anthropiques sont à l'origine d'un enrichissement des sols en éléments en traces métalliques comme le cadmium (Cd), le zinc (Zn), le nickel (Ni), le plomb (Pb) et Cu. Parmi les sources industrielles et urbaines de contamination des sols en Cu, l'activité minière et le traitement des minerais, l'utilisation d'installations électriques (câblages) en Cu ainsi que la production et l'incinération de déchets municipaux provoquent une pollution localisée des sols (**Tiller et Merry 1981 ; Baker et Senft 1995 ; Bourelrier et Berthelin 1998**).

Outre ces apports anthropiques, la source principale de pollution des sols en Cu est l'utilisation de fongicides à base de Cu. (**Tiller et Merry 1981**)

### II-6-2-Les formes du cuivre :

Les différentes formes du cuivre dans le sol Le cuivre, comme tout élément du sol, peut se trouver dans l'un des 4 compartiments suivants : minéraux primaires ou secondaires, composés organiques, formes échangeables sur les colloïdes du sol et solutions du sol (**Guillet, 1980**). La forme Cu<sup>2+</sup> est dominante dans les sols, en effet Cu<sup>+</sup> est instable aux températures ordinaires et aux concentrations supérieures à 10<sup>-7</sup> mol·l<sup>-1</sup> (**Loué, 1986**). La majeure partie du cuivre est généralement incluse dans les mailles cristallines des minéraux primaires ou secondaires (**Mengel et Kirkby, 1982**). Le reste du cuivre, potentiellement disponible pour les plantes, est fortement adsorbé sur les surfaces d'échange du sol (argiles : Muller, 1960; hydroxydes de fer : Mac Bride et Blaziak, 1979) ou complexé avec la matière organique (**acides humiques et fulviques : Hodgson et al, 1966; Delas, 1967; Schnitzer et Skinner, 1966**). La concentration du cuivre dans la solution du sol est le résultat d'un équilibre chimique entre les différentes phases qui sont liées par des réactions acido-basiques, d'oxydo-réduction, de précipitation, de dissolution, d'absorption et de complexation (**Lepp, 1979**). En milieu abiotique, la mobilité et l'assimilabilité du cuivre sont conditionnées par les propriétés physico-chimiques du sol; l'élévation du pH diminue fortement l'assimilabilité du cuivre (**Drouineau et Mazoyer, 1962**). L'intervention de la microflore joue un rôle important dans l'immobilisation du cuivre dans les couches superficielles de certains sols (**Kabata-Pendias et Pendias, 1984**). Le mouvement des ions dans le compartiment liquide du sol est conditionné par 2 processus principaux : la diffusion et le flux de masse (convection). Le

transfert du cuivre vers la racine semblerait se réaliser principalement par le flux de masse (Hodgson et al, 1966).

## II-7-Le cuivre dans la plante :

### II-7-1-Effet du cuivre sur les plantes :

Le cuivre joue un rôle déterminant dans la formation des protéines. Il régule différents processus enzymatiques des tissus végétaux, principalement l'oxydase, qui influence à son tour le métabolisme de l'azote. On peut donc dire que le cuivre a un rôle très important dans le métabolisme de la plante. Le cuivre est assimilé par les plantes sous forme de  $\text{Cu}^{++}$  et vraisemblablement aussi sous forme de complexes organiques contenant peu de molécules, et en partie à partir de complexes anorganiques. La concentration la plus faible de cuivre dans le sol pour laquelle des effets phytotoxiques ont été observés est de 50 mg  $\text{Cu}\cdot\text{kg}^{-1}$  de sol sec; Les symptômes typiques de la toxicité du cuivre chez les plantes incluent l'apparition de feuillage vert foncé suivie par l'induction d'une chlorose ferrique, des racines épaisses, courtes ou barbelées et un enracinement réduit (Kabata-Pendias et Pendias, 1991). Des teneurs très élevée de cuivre dans le sol inhibe la croissance des racines et diminue le rendement des récoltes. Le feuillage présente une chlorose proche de celle observée lors d'une carence en fer. Le cuivre en excès endommage le plasmalemmes. Dans le sol le cuivre réagit avec le fer, ce qui provoque une carence en fer pour la plante (chlorose). Il réduit l'activité microbienne dans le sol et donc la vitesse de décomposition de la matière organique (LETEINTURIER, B 2002).

### II-7-2-Adsorption du cuivre par la plante :

Les taux d'absorption du cuivre sont parmi les plus bas comparés à ceux des autres éléments essentiels, et varient suivant les espèces et les variétés (Gilkes 1981).

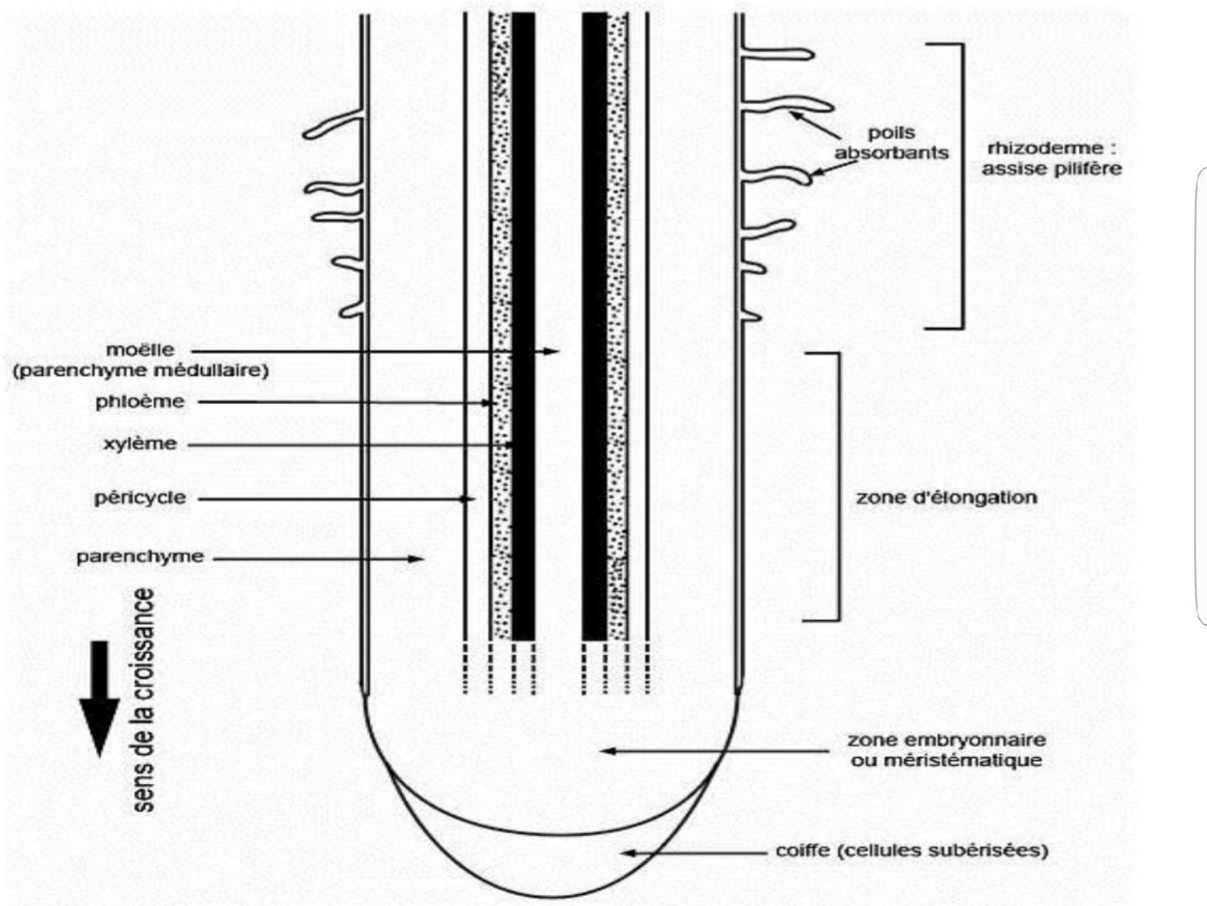
le cuivre est généralement complexé à la matière organique du sol (exsudats racinaires, substances humiques...), mais également sous forme minérale dans une proportion qui dépend de la nature du milieu. Les quantités absorbées par les plantes sont corrélées à la quantité d'ions libres en solution à proximité des racines (Quartacci et al. 2009), et donc au Ph.

Le cuivre est prélevé en faible quantité par la plante, la teneur en cet élément de la majorité des végétaux est entre 2 et 20 mg/kg de poids sec. Dans les tissus racinaires, le cuivre est presque complètement sous forme complexée mais il est probable qu'il pénètre à l'état élémentaire dans les cellules de la racine (Kabata-Pendias et Pendias, 1984).

L'absorption du cuivre est liée à sa concentration sous forme assimilable dans le sol (Mengel et Kirkby, 1982), mais aussi à l'inhibition compétitive du zinc qui utilise les mêmes sites d'absorption racinaire (Schmid et al, 1965; Bowen, 1969). Keller et Deuel (1958) ont montré que le cuivre est capable de chasser de nombreux autres ions des sites d'échange racinaire. L'intensité de la rétention du cuivre sur les parois cellulaires et dans les espaces intercellulaires est liée à la capacité d'échange racinaire (Cathala et Salsac, 1975). Ceci

explique l'accumulation de cuivre dans les racines des végétaux observée par **Russ (1958)**, **Hill (1973)** et **Jarvis (1978)**.

Certaines études ont montré que l'absorption de cuivre augmentait dans les sols pauvres en fer, cette augmentation étant attribuée à l'augmentation des phytosidérophores dans les exsudats (**Komarek et al. 2010**). Une fois cette barrière passée, les réseaux de transport du cuivre dans les cellules des plantes sont similaires à ceux des cellules animales (**Clemens 2001**)



**Figure 4 : Coupe longitudinale de la racine ; principaux tissus (Claire-Emmanuelle MARCATO 2007)**

### II-7-3-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.) (**McBride 2001 ; Ali et al. 2002**), blé tendre (*Triticum aestivum* L.) (**Chaignon et al. 2002b**), colza (**Chaignon et al. 2002a**). 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 (**Allan et Jarrell 1989**).

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) (**Pich et Scholz 1996 ; 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 ; Dučić et Polle 2005**).

#### **II-7-4-La translocation du cuivre dans la plante :**

Le cuivre se lie à un récepteur spécifique sur la surface externe de la membrane plasmique (**Lastra et al., 1987**). Le complexe est déplacé à travers la membrane plasmique et une fois sur la surface interne, le complexe change de configuration; le cuivre est alors libéré dans le cytoplasme. La sève brute du xylème permet son transport vers les parties aériennes. La sensibilité des racines au cuivre (**Stiborva et al. 1986; Jarvis et Whitehead, 1993**) est probablement due à sa forte accumulation dans ces organes ainsi que sa faible translocation vers les parties aériennes. (**Jiang et al., (2000)**).

#### **II-7-5-La carence en Cuivre:**

Causes de déficience en cuivre Les principaux facteurs susceptibles de favoriser l'apparition de déficiences de Cu sont les suivants (**Loué, 1993**) : Les faibles réserves du sol en Cu total ou la mauvaise disponibilité de Cu du sol pour les plantes, le pH du sol, les interactions avec d'autres éléments fertilisants, type de sols déterminés ou des sols développés sur une roche mère pauvre en cuivre.

On prend quelques exemples des plantes sensibles et symptômes de carences en cuivre : Les céréales, sauf le seigle, sont très sensibles à la carence en cuivre ainsi que les petits pois et le trèfle violet. Les graminées fourragères, sur les sols les plus déficients, peuvent extérioriser le symptôme du « bout blanc des plus jeunes feuilles » (**Coïc et Coppenet, 1989**). Une carence légère affecte d'abord les organes reproducteurs, une carence grave affecte tous les organes. Les arbres à pépins présentent des nécroses de la pointe et du bord des feuilles rappelant ainsi une carence en potasse. Les feuilles les plus jeunes tombent prématurément dans le courant de l'été laissant les extrémités des rameaux nues et desséchées, la croissance en hauteur est très perturbée.

#### **II-7-6-Les mécanismes d'adaptation des plantes:**

Quand les quantités de cuivre dépassent les besoins nécessaires, les stratégies des plantes varient selon les espèces. En fonction des quantités absorbables on distingue alors les plantes tolérantes des plantes hyperaccumulatrices qui peuvent accumuler plus de 1000 mg.kg<sup>-1</sup> matière sèche dans leurs tissus aériens (**Ali et al. 2002**). Deux processus principaux de défense ont été décrits : l'exclusion quand il y a réduction de l'absorption racinaire, et l'accumulation lorsque la barrière endodermique des racines est franchie (**Baker et Walker 1990**). Comme exemple du mécanisme d'exclusion, on peut citer la formation de nanoparticules de cuivre métallique autour des racines de *Phragmites australis* et de *Iris 20 pseudoacorus* (**Manceau et al. 2008**). En cas d'accumulation, dans la grande majorité des cas, la partie en excès du cuivre qui pénètre n'est pas transférée vers les parties aériennes mais reste localisée dans les racines. Soit le métal est fixé à la paroi des cellules où il serait alors associé à des groupements thiols -SH ou hydroxyles -OH (**Liu et Kottke 2004; Lou et al. 2004; Sahi et al. 2007; Komarek et al. 2010**), soit il est stocké à l'intérieur des cellules, dans le cytosol associé aux métallothionéines ou dans les vacuoles associé aux phytochélatines et à des acides organiques (**Clemens 2001; Kupper et al. 2009**). Les parois et vacuoles seraient les principaux sites d'accumulation du cuivre (**Arru et al. 2004; Lou et al. 2004**). En sus de ces mécanismes, il a été montré que les plantes pouvaient répondre à ces agressions par un changement dans l'expression de leurs gènes qui conduit à la synthèse de protéines spécifiques (**Cuypers et al. 2005**), et il a été mis en évidence la présence de précipités de cuivre dans les différents compartiments cellulaires (**Liu et Kottke 2004; Sahi et al. 2007; Manceau et al. 2008**). Ces précipités se retrouvent tout d'abord dans les vacuoles et sur la paroi des cellules, puis à mesure que les quantités augmentent, ils se retrouvent dans les autres compartiments. Il se peut néanmoins que le cuivre ne reste pas stocké dans les racines, et il a été observé des accumulations dans les tiges (dans les tissus du xylème), les cellules des pousses, les épines et trichomes abaxiaux (**Arru et al. 2004**). Il semblerait que, contrairement aux racines, où Cu serait lié principalement à des composés soufrés, il serait préférentiellement lié à des ligands azotés/oxygénés comme les acides organiques dans les feuilles (**Sahi et al. 2007 ; Kupper et al. 2009**).

### III. Le Zinc:

#### III-1-Définition :

Le zinc, élément du groupe IIB du tableau périodique, de masse atomique 65,38 g/mol, possède une densité élevée de 7,14 g.cm<sup>-3</sup>. (Finney, L.A., et O'Halloran .2003).

Le zinc est un métal ductile, bleu gris, moyennement réactif, qui se combine avec l'oxygène et d'autres non-métaux, et qui réagit avec des acides dilués en dégageant de l'hydrogène. La teneur moyenne en zinc de la croûte terrestre serait comprise entre 70 et 132 mg/kg. (Richardson et al. 2001)

Le zinc possède cinq isotopes stables. Leurs masses et abondances naturelles sont : 64Zn (48,27 %), 66Zn (27,90 %), 68Zn (18,80 %) et 67Zn (4,10 %) et 70Zn (0,63 %). (Vallee et Falchuk, 1993)

Les minerais de zinc les plus répandus dans la nature sont le sphalérite (ZnS) et le smithsonite Zn(CO<sub>3</sub>). Les principaux apports de zinc anthropiques sont les déchets agricoles qui représentent 61% de la pollution totale suivis par les déchets urbains (20%) et les retombées atmosphériques (18%) (FEIX, 1998).

Comme le cuivre, le zinc fait partie des éléments essentiels pour l'homme, les animaux et les plantes. Il est contenu dans certaines enzymes et il est indispensable pour beaucoup de processus biologiques et biochimiques. La limite de toxicité pour l'homme dans l'eau est assez haute (30 mg.l<sup>-1</sup>) par contre, il est très toxique pour tous les organismes aquatiques (quelques centièmes de mg.l<sup>-1</sup>). Sa toxicité, comme dans le cas du cuivre, dépend de la spéciation en solution (PITTER, 1999).

De la même manière que dans le cas du cuivre, un des facteurs influençant le plus le comportement du zinc dans les sols est le pH. Le zinc à pH basique peut précipiter comme hydrozincite (Zn<sub>5</sub>(OH)<sub>6</sub>(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ou comme Zn(OH)<sub>2</sub>.

Par contre, dans les sols acides ou neutres, le zinc est l'un des éléments traces les plus mobiles (EL ZAHABY, 1998 ; ASHLEY, 1996). Dans les sols riches en matière organique, l'ordre de stabilité du métal complexé avec la matière organique suit la série d'Irving-Williams : Fe<sup>3+</sup> > Al<sup>3+</sup> > Cu<sup>2+</sup> > Ni<sup>2+</sup> > Co<sup>2+</sup> > Ca<sup>2+</sup> > Zn<sup>2+</sup> > Mn<sup>2+</sup> > Mg<sup>2+</sup>. Par rapport à un type de ligand donné, l'ordre de la série est celui de la diminution du rayon ionique du métal (ASHLEY 1996). Les constantes de stabilité des complexes du zinc avec la matière organique sont donc plus petites que celles du cuivre : le zinc a un plus petit pouvoir complexant que celui du cuivre (STEVENSON, 1994). Par ailleurs, certaines études montrent (HARITA ET AL. 1990 ; CAVALLARO et MCBRIDE, 1984) que le zinc ne se complexe pas avec la matière organique et que le principal mode de rétention du zinc dans le sol est l'échange ionique.

### III-2-Importance économique et sociale du Zn :

Les métaux et métalloïdes sont tous originaires de la croûte terrestre à des teneurs de fond variables dans le sol selon la région (**Reimann & Garrett, 2005**). La teneur de fond naturelle moyenne mondiale du Zn est de 90 mg/kg, avec des valeurs oscillant entre 1 et 900 mg/kg (**Bradl, 2005**). Le minerai de Zn exploitable d'un point de vue commercial provient principalement sous forme de sphalérite (ZnS).

D'autres minéraux non exploitables, comme la franklinite (ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) ou la zincite (ZnO), contiennent des concentrations importantes de Zn. Il est le quatrième métal le plus consommé au monde après le fer, l'aluminium et le cuivre et joue un rôle important dans l'économie.

Plus de 47% du Zn est utilisé dans le procédé de galvanisation de l'acier, ce procédé de recouvrement par trempage ou électro-placage de Zn qui protège l'acier de la corrosion. Le reste du Zn est utilisé dans la fabrication du laiton, des pièces moulées, des produits chimiques et des matériaux de construction (**IZA, 2011**). Le Zn joue aussi un rôle important dans la santé humaine et la santé des écosystèmes car il constitue un élément essentiel (à des quantités traces).

### III-3-Le zinc oligo-élément :

Le Zinc est un oligo-élément nécessaire au métabolisme des êtres vivants, essentiel pour de nombreux métallo enzymes et les facteurs de transcription qui sont impliqués dans divers processus cellulaires tels que l'expression des gènes, transduction du signal, la transcription et la réplication (**GUNNAR, F. et all.2007**)et(**PICHARD, 2005**). On estime, par exemple, que 12 à 50 % du zinc intracellulaire est impliqué dans la machinerie de transcription et de traduction (**Finney et O'Halloran, 2003**).

Il est un composant essentiel pour un grand nombre de protéines et d'enzymes (**Berg et Shi, 1996; Jou et al., 2010; (Berg et Shi, 1996 ; Wolfe, Grant et Pabo, 2003)**). Le Zn participe à de nombreuses réactions métaboliques, surtout comme agent catalyseur. On trouve le Zn dans plus de 80 systèmes enzymatiques où il a des rôles très variés.

### III-4-Rôle du Zn :

Le zinc est indispensable pour la croissance et la reproduction normale des plantes. Cet élément est requis en faible quantité afin de permettre, d'une part, le fonctionnement normal de plusieurs voies physiologiques des plantes et d'assurer, d'autre part, l'intégrité structurale et fonctionnelle des membranes.

Le Zn a un rôle important dans la régulation de la croissance des plantes et celle de l'expression des gènes. Il intervient aussi dans les différentes voies métaboliques telles que l'activité de phytohormones, la synthèse des protéines, la photosynthèse, le métabolisme des glucides, la défense contre les maladies et aussi dans la fertilité et la production de semence (**Sadeghzadeh, 2013**).

### III-5-Zinc dans le sol :

La teneur moyenne en zinc de la lithosphère est en général de 50 mg/kg environ (**Kovda et al, 1964**) et les variations ne sont pas très importantes: de 10 à 150 mg/kg. La teneur en zinc de la roche-mère dépend de son origine géologique.

Dans les roches, le zinc se trouve principalement sous forme de sulfures (sphalérite), carbonates (smithsonite) et de silicates (willemite). On le rencontre comme ion de remplacement dans les mailles cristallines des roches ferro-magnésiennes (augite, horblende, biotite). Il est adsorbé entre les feuillets des argiles minérales ou en substitution du magnésium (montmorillonite).

#### III-5-1-Formes chimiques du Zn dans le sol :

D'une façon générale, le Zn dans les sols est plutôt lié aux silicates primaires, aux minéraux argileux et à la matière organique (Loué, 1993). L'espèce ionique la plus commune est le  $Zn^{2+}$ . Toutefois on peut retrouver d'autres espèces telles :  $ZnCl^+$  ;  $ZnOH^+$  ;  $Zn(OH)_2$ ,  $ZnO$  ;  $ZnCO_3$ ,  $ZnHCO_3$  (**Kabata-Pendias et Pendias, 1992**). Les formes oxydées (trivalentes et tétravalentes) sont les principaux états du Mn dans les SOIS (Loué, 1993). et dans la solution du sol sous forme de  $Zn^{2+}$  ou plus souvent de complexe soluble avec les matières organiques (**Barber S.A., Silberbush M., 1984**). La proportion de Zn complexe dans la solution de sol augmente avec le pH (5 à 90 %). Le Zn échangeable diminue lorsque le pH augmente. Le Zn réalise aussi des complexes insolubles avec les matières organiques (**Bourrelrier P et J Berthelin 1998**). La concentration minimale de Zn en solution est entre pH 7 et 8. La concentration en solution de Zn augmente fortement pour des pH < 6 (**OFEFP, 1996**).

### III-6-Zinc dans la plante :

Les plantes sont généralement très tolérantes aux métaux car elles possèdent des mécanismes de protection qui empêchent le métal d'affecter le métabolisme de la plante. Elle capterait et séquestrerait aussi les métaux dans les cellules à l'intérieur de vacuoles ou par des métallothionéines, des protéines capables de s'attacher aux métaux et de désintoxiquer le métabolisme végétal (**Reichman, 2002**). La phytotoxicité du Zn survient lorsque les tissus végétaux accumulent en moyenne plus de 300 mg/kg de Zn, variant entre 44 à 5000 mg/kg selon l'espèce végétale testée, la partie de la plante analysée (racines, feuilles, jeunes pousses, etc.) et la méthode de culture utilisée (**Tambasco et al., 2000**).

#### III-6-1-Absorption du zinc par la plante :

Le zinc est absorbé grâce à des transporteurs d'influx de zinc appartenant à la famille des ZIP (**Zinc-regulated transporter Iron-regulated transporter-like Proteins, Fox et Guerinot, 1998**).

L'absorption du zinc est en grande partie sous contrôle métabolique. De nombreux auteurs ont montré l'effet d'inhibiteurs sur le prélèvement (**Schmid et al, 1965; Chaudhry et**

**Loneragan, 1972; Giordano et al, 1974**). Le phosphore, le fer et le cuivre peuvent entrer en compétition avec le zinc dans les processus d'absorption et de transfert.

L'absorption des minéraux est assurée par toute la surface de la plante qui est en contact avec l'eau et ses substances dissoutes. La vitesse d'absorption du zinc, bien qu'elle soit largement dépendante de l'espèce, reste néanmoins déterminée par la composition et la concentration du milieu de croissance. Le Zn est absorbé sous forme de cation divalent ( $Zn^{2+}$ ) ou sous forme de complexe avec des ligands organiques (**Tsonev and Lidon, 2012**). Les travaux de **Von Wiren et al. (1996)** ont proposé deux voies pour l'assimilation du zinc par les graminées : le transport du cation libre ou l'assimilation sous forme chélatée avec les phytosidérophores. Plus récemment, les gènes codant pour les transporteurs du zinc, appelés de façon générale ZIP (**Zinc-regulated transporters, Iron-regulated transporterlike Protein**) ont été identifiés et séquencés (**Guerinot, 2000; Wintz et al., 2003**).

### III-6-2-Distribution du zinc dans la plante :

Le zinc est plus mobile au sein de la plante que le cuivre, cependant, les racines contiennent de plus grandes quantités que les parties aériennes, en particulier lorsque les apports sont importants. Dans le cas d'une consommation de luxe, le zinc peut être déplacé des racines vers les parties aériennes où ils se concentrent dans les chloroplastes, les vacuoles et les membranes cellulaires. Lors de la translocation, le zinc est chélaté à des acides organiques (**Tremel-Schaub et Feix, 2005**).

Le vaisseau conducteur xylème contient une teneur plus importante supérieure à celle de la solution prélevé par les racines. Le zinc semble être transporté dans sève brute sous forme ionique (**Tiffin, 1967**) ou lié à des acides organiques (**White et al, 1981**). Par contre, dans la sève élaborée du phloème, il est transporté sous forme de complexe anionique (**Van Goor et Wiersma, 1976**). Le zinc est un élément peu mobile et, en cas de consommation, il tend à s'accumuler dans les racines (**Loneragan, 1977**). **Massey et Loeffel (1967)** ont montré, sur maïs, la possibilité d'une remobilisation du zinc foliaire au moment de la formation de l'épi, mais cette remobilisation ne se manifeste plus si la plante est carencée (**Riceman et Jones, 1958**).

### III-6-3-La translocation du zinc dans la plante :

La translocation est le transport des éléments traces métalliques au sein de la plante, des racines vers les autres parties de la plante. Elle peut varier considérablement en fonction du métal, mais également de l'espèce végétale. Le déplacement du zinc des racines vers les parties aériennes est effectué à travers le xylème par circulation de la sève brute (**Marcato, 2007**).

La translocation du zinc à travers les vaisseaux du xylème s'effectue par l'intermédiaire des symplastes et apoplastes. Cependant des concentrations élevées de zinc ont été observées dans le phloème, démontrant que ce métal est transloqué à travers les tissus à la fois du xylème et du phloème (**Tsonev and Lidon, 2012**).

L'interaction entre le zinc et le phosphore sur la translocation du zinc a été rapportée par différents auteurs. Ainsi, des déficiences en zinc peuvent être induites avec des faibles doses de phosphore du fait d'une inhibition de la translocation du zinc plus qu'une réduction

de l'absorption et de la teneur dans les racines (**Loué, 1993**). Les quantités d'élément transporté vers les parties aériennes sont donc fonction de l'élément, mais elles dépendent également du végétal et/ou de l'organe considéré ainsi que des conditions du milieu.

#### **III-6-4- Excès de zinc :**

D'après (**Loué, 1993**) En quantité excessive dans le sol, le zinc peut devenir toxique pour les plantes. La toxicité de Zn concerne généralement des sols acides ou des cultures sur solutions nutritive. L'excès de Zn se traduit par des teneurs en Zn anormalement élevées dans la plante, supérieure à 400ppm, le déséquilibre nutritionnel peuvent en résulter et il est démontré que les teneurs des tissus végétaux en P et Fe sont diminuées.

#### **III-6-5-La carence en Zinc :**

En zinc Le maïs et le lin sont les plantes annuelles, les plus sensibles à la carence en zinc. Chez les espèces ligneuses il faut citer le pommier, le poirier, la vigne...etc. avec un symptôme commun, la « maladie des rosettes ». Les entre-nœuds sont raccourcis, les feuilles sont petites, cassantes, à bord ondulé avec parfois des plages chlorotiques ; elles sont groupées en rosettes. Les feuilles sont petites et déformées (**Coïc et Coppenet, 1989**)

#### **III-6-6-La toxicité du Zinc :**

La toxicité du zinc apparaît surtout dans les milieux contaminés, généralement par des sources anthropiques, mais aussi lorsque le pH du sol est faible (**Chaney, 1993**), et que le zinc est plus facilement biodisponible pour les plantes. Dans la plupart des cas, les symptômes de toxicité au zinc apparaissent quand la concentration de zinc dans les feuilles est supérieure à 300 mg kg<sup>-1</sup> de matière sèche. Ces symptômes se manifestent parfois aussi à des concentrations inférieures à 100 mg kg<sup>-1</sup> de matière sèche chez certaines espèces de plante. Les seuils de toxicité dépendent de beaucoup de facteurs et peuvent donc être très variables (**Chaney, 1993; Marschner, 2011**).

Les symptômes de toxicité au zinc chez les plantes sont observés par un retard de croissance et de flétrissements des parties aériennes (**Broadley et al., 2007**). Un autre symptôme fréquemment observé est la chlorose, qui entraîne un jaunissement des feuilles entre les nervures. Un excès de zinc perturbe le bon fonctionnement cellulaire en dégradant les chloroplastes et l'absorption de minéraux tels que le phosphore, magnésium et manganèse, ce qui perturbe la synthèse de chlorophylle (**Boawn & Rasmussen, 1971; Carroll & Loneragan, 1968; Chaney, 1993; Foy et al., 1978**)

D'après Rousseau le maximum "normal" des teneurs de Zn dans les plantes est de 150mg/kg MS. Au-delà de cette concentration le Zn devient toxique. La toxicité du Zinc dépend du Ph et la nature de la plante qui contrôle la concentration du Zn dans la solution (**Emamverdian et al., 2015; Rout and Das, 2009**). Les effets cytotoxiques du zinc sur les plantes sont multiples. La modification majeure concerne le noyau des cellules de l'extrémité des racines. La chromatine est fortement condensée et certaines des cellules corticales montrent la rupture et la dilatation de leur membrane nucléaire en présence de 7.5 mm de

zinc. De plus, le cytoplasme change de structure. Ainsi La désintégration d'organites et le développement de vacuoles sont aussi observés (**Garty et al., 1992; Rout and Das, 2009**).

La toxicité du Zinc, dépend de la spéciation en solution (**PITTER, 1999**). Parmi les facteurs influençant le plus sur le comportement du zinc dans les sols est le pH. Le zinc à pH basique peut précipiter comme hydrozincite ( $Zn_5(OH)_6(CO_3)_2$ ) ou comme  $Zn(OH)_2$ .

Par contre, dans les sols acides ou neutres, le zinc est l'un des éléments traces les plus mobiles (**EL ZAHABY, 1998 ; ASHLEY, 1996**). Dans les sols riches en matière organique, l'ordre de stabilité du métal complexé avec la matière organique suit la série d'Irving-Williams :  $Fe^{3+} > Al^{3+} > Cu^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} > Ca^{2+} > Zn^{2+} > Mn^{2+} > Mg^{2+}$ . Par rapport à un type de ligand donné, l'ordre de la série est celui de la diminution du rayon ionique du métal (**ASHLEY 1996**). Les constantes de stabilité des complexes du zinc avec la matière organique sont donc plus petites que celles du cuivre : le zinc a un plus petit pouvoir complexant que celui du cuivre (**STEVENSON, 1994**). Par ailleurs, certaines études montrent (**HARITA ET AL. 1990 ; CAVALLARO et MCBRIDE, 1984**) que le zinc ne se complexe pas avec la matière organique et que le principal mode de rétention du zinc dans le sol est l'échange ionique.

# Chapitre II

La fève *Vicia faba* L

## I- Généralités sur les légumineuses :

Les légumineuses comptent environ 700 genres et 17000 espèces ; se sont des plantes herbacées, des arbustes, des arbres ou des lianes. Leurs feuilles sont alternées, composées, pennées ou palmées, et en générale pourvu de stipule. Formées d'un calice gamosépale souvent bilabié et d'une corolle dite papilionacée parce que sa forme rappelle celle d'un papillon, leurs fleurs, hermaphrodites, sont surtout zygomorphe et en générale pentamères. La corolle, qui du reste ne présente pas ce type de structures dans l'ensemble de la famille, est formée d'un grand pétale supérieur, l'étendard de deux pétales latéraux parallèles, les ailes, et deux pétales inférieurs, recourbés vers le bas, libres ou réunis par le bord inférieur de manière à former la carène qui renferme les étamines et le pistil. Les étamines sont de nombre de 10. Le fruit issu d'un seul carpelle, et un fruit sec typique (**BAMOUH 1994**). A maturité, il peut s'ouvrir suivant une ou deux lignes longitudinales, mais parfois il ne s'ouvre pas du tout et est divisé en autant que loges qu'il y'a des graines (dont les cotylédons sont riches en amidon).

Un autre caractère très important de légumineuses, mais surtout de celles qui sont herbacées, est l'existence d'une relation de symbiose entre les racines et des bactéries (*Rhizobium*) capables de fixer l'azote atmosphérique (**JENSEN, 1986**).

Les légumineuses sont souvent plantées en alternance avec d'autres cultures, car elles constituent un facteur. La famille renferme de nombreuses espèces comestibles (fève, pois chiche, pois, soja, haricot, arachide), ornementale (lupin, genêt, robinier, glycine, etc) fourragères (trèfle, sainfoin, luzerne, gesse).

Dans les conditions de faible disponibilité de l'azote minéral, les légumineuses sont a priori privilégiées puisqu'elles peuvent fixer l'azote atmosphérique. Ce pendant la nutrition azotée des légumineuses étant d'abord assurée par la réduction de  $\text{NO}_3^-$  du sol, la fixation symbiotique prend, par la suite, le relèvement (**OBATON et al, 1980**). Le sel limite les deux voies d'alimentation azotées. Ce pendant les légumineuses dépendant uniquement du nitrate pour leur alimentation azotée tolèrent mieux la contrainte saline que celles utilisant l'azote fourni par la fixation symbiotique (**TU.J.C 1981 ; LAUTER, 1981 ; SINGLETON, 1983**).

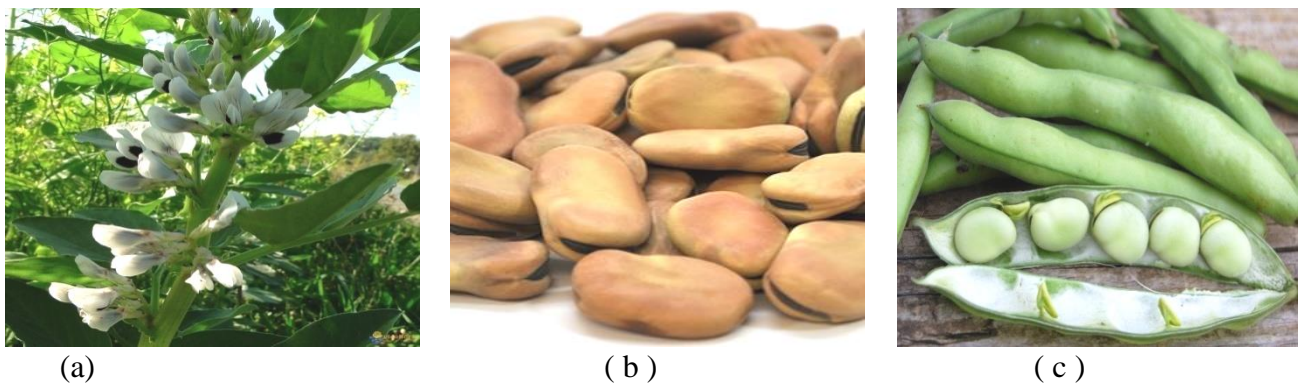
### I-1-Description de la fève (*Vicia faba* L.) :

La fève (*Vicia faba* L.) est une légumineuse de classe des Magnoliopsidaale cultivée dans le monde entier comme engrais vert et graine. C'est une plante de 30-80 cm, glabrescente, dressée et robuste. Les feuilles, de 1 à 3 paires de folioles, sont grandes, ovales,

entières et succulentes. Ses fleurs sont de couleur blanche avec des ailes noires, regroupées de 2 à 5 en petites grappes. Le fruit appelé « gousse » a une longueur de 10 à 20 cm. Il est renflé, charnu, dressé et noir à la maturité. Les graines ont une longueur de 2- 3 cm. Elles sont ovales, à hile linéaire (**Boyeldieu, 1991**).

La culture de la fève contribue à la durabilité des systèmes par sa capacité de fixer l'azote via la fixation biologique, par la diversification des systèmes conduisant à une diminution des maladies de culture,

l'accumulation des ravageurs et des mauvaises herbes et potentiellement une augmentation de la biodiversité, elle réduit la consommation d'énergies fossiles dans la production et fournit les aliments riches en protéines. Malgré cela, la fève est cultivée seulement sur une superficie de 2.6 million de ha ces dernières années (FAOSTAT, 2008), en comparaison avec le Pois cultivé (*Pisum sativum* L.) et la superficie du Soja (*Glycine max* L.). La zone semée en fève a diminué dans les principaux pays de production tels que la Chine et reflète une tendance générale depuis les années 1960 pour une dépendance croissante par les agriculteurs sur les engrais N plutôt que des systèmes de légumineuses comme source d'entrée d'azote (**Smil, 2001; Crews et Peoples, 2004**).



**Figure 5 : a (aspect des fleurs et des feuilles de la fève *Vicia faba* L.), b (aspect des graines) , c (aspect des gousses)**

### **I-2- Origines des fèves :**

On ne connaît pas de forme ancestrale aux fèves et tous les rapprochements taxonomiques tentés avec *Vicia narbonensis* et *Vicia galilea*, en particulier, se sont heurtés aux incompatibilités (Bond & Poulsen, 1983). Selon **Le Guen J. et Duc G. (1996)**, le centre

de diversification de l'espèce *Vicia faba* L. serait localisé au Proche et Moyen-Orient. A partir de ce centre d'origine, différentes migrations auraient eu lieu: L'une, la plus importante, se serait faite autour du bassin méditerranéen. A partir de cette première migration, une extension vers l'Europe du Sud (Espagne, Italie) et de l'Ouest (France) se serait produite à la suite de conquêtes et d'échanges commerciaux. Une seconde migration vers l'est, et en particulier vers l'Inde et l'Afghanistan, se serait opérée en même temps qu'une migration vers le sud et plus spécialement vers l'Ethiopie. Une aire secondaire de diversification se serait constituée dans ces régions. Les grandes migrations vers l'Europe Centrale et l'Europe du Nord auraient débuté aux environs de l'âge du fer. La migration la moins bien connue est celle réalisée vers la Chine qui se serait réalisée en deux temps : La première se serait produite il y a environ 2000 ans pour le type minor et la seconde vers les années 1100-1200 de notre ère pour le type major. Des migrations tardives (XVIème siècle) ont également eu lieu vers l'Amérique du Sud pour le type major au temps des conquêtes coloniales espagnoles et portugaises. Ces fèves ont produit des cultivars très adaptés à la culture d'altitude (fève de Cuzco au Mexique et fèves des Andes en Amérique du Sud). Du fait de cette adaptation très particulière, le Pérou, la Bolivie, la Colombie, l'Equateur et le Mexique peuvent être considérés comme d'importants centres secondaires de diversification.

NB : Il en résulte de ces diverses migrations et de la constitution des centres secondaires de diversification aussi différents comme l'Ethiopie, l'Amérique latine, l'Europe et la Chine que la variabilité génétique de l'espèce *Vicia faba* L. est considérable (**Le Guen J. et Duc G., 1996**).

## II- Classification systématique :

La classification de la fève est la suivante

Règne : végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Dialypétales

Série : Caliciflores

Ordre : Rosales

Famille : Fabacées (légumineuses)

Sous-famille : Papilionacées

Genre : *Vicia*

Espèce : faba



Figure 6: Les différentes parties de la fève *Vicia faba* (Thomé 1885).

### II-1-Les variétés de la fève :

Il existe 2 sous-espèces, paucijuga et eu-faba. Dans la sous-espèce eu-faba qui nous intéresse, on dénombre 3 groupes définis par la taille des graines le premier groupe comporte des graines petites (*Vicia fabaminor*) correspond au terme féverole utilisée pour l'alimentation du bétail, le deuxième groupe est défini par des graines moyennes (*Vicia fabaequina*), et il est également destiné à l'alimentation du bétail et le troisième groupe est caractérisé par de grosses graines que l'on appelle communément fève (*Vicia fabamajora*) destinées à la consommation humaine (Gallais et Bannerot, 1992). Il existe quatre variétés de fève :

#### • Variétés très précoces :

On rencontre dans ce groupe le type Muchaniel. Elle a des gousses de couleur vert clair, de 20cm de longueur en moyenne, renfermant 5 à 6 graines blanches, elle est très productive.

#### • Variétés précoces :

On rencontre dans ce groupe la Séville à gousses longues, renferment 5 à 6 graines volumineuses. Sa tige est d'une hauteur de 70cm, se distinguant des autres variétés par la couleur de son feuillage, d'un vert assez franc (Chaux et Foury, 1994). Ses gousses présentent une largeur d'environ 3cm et une longueur de 25 cm (Laumonier, 1979).

**• Variétés demi-précoces :**

Les variétés demi-précoces appartiennent au type fève d'Aguadulce, elles sont caractérisées par une plante de végétation haute de 1,10 à 1,20m, et possèdent des gousses volumineuses et très longues, renferment 7 à 9 graines. C'est une variété très productive (Chaux et Foury 1994). Elle est introduite en Algérie, avec la Séville, d'Espagne (Zaghouane, 1991).

**• Variétés tardives :**

Elles ont une hauteur moyenne de 85cm, elles produisent de nombreuses gousses contenant 4 graines.

**III- Production de la fève :****III-1-En Algérie :**

En Algérie, les fèves sont les plus importantes cultures de légumineuses alimentaires avec 58000 hectare soit 44.3% de superficie et 35.7% de production. La superficie a notamment régressée depuis 1987 et se situe de nos jours autour de 45000 hectares. C'est surtout la fève qui, pratiquée alors la féverole, jadis plus cultivée, n'occupe même pas 5000 hectares. La consommation des fèves se fait beaucoup plus en gousses fraîches qu'en graines sèches. Le rendement en grains est très faible et se situe entre 300 et 400 kg/ha malgré que plus que 80% des superficies sont localisées en zones favorables des plaines côtières et intérieures recevant une pluviométrie appréciable et variant de 500 à 600 mm/an et que 7% de ces superficies sont conduites en gousses fraîches qui influence les niveaux de rendements en grain.

La culture des fèves subit sévèrement les effets de contraintes abiotiques telles que le froid, les gelées, la chaleur, la sécheresse terminale et la salinité (au sud). Les contraintes biotiques les plus importantes sont les adventices, les maladies fongiques et virales, les nématodes, les insectes et l'orobanche. D'autres limitations telles que les non utilisations de semences certifiées, d'engrais, d'herbicides et insecticides maintiennent les rendements à des niveaux bas. La culture des fèves n'est pas économiquement attractive pour les agriculteurs ; elle impose les charges de mains d'œuvres élevées, car non méconnaissable pour les opérations comme le semis et la récolte et ne bénéficie pas le prix aux productions conséquentes.

Des efforts récents sont déployés pour résoudre certains problèmes de la culture, mais rien de cohérent n'est encore fait pour réhabiliter cette culture et favoriser son développement. (MAATOUGUI, 1996).

### III-2-En monde :

La fève représente une production mondiale de 3515748 tonne. La chine est le plus grand pays producteur avec 1650000 T pour la campagne 2009/2010, puis vient l'Ethiopie en deuxième position avec une production de 610845T. La France est classée en troisième position (FAO, 2010) (Tableau 3).

**Tableau 3 : La production mondiale de fève, campagne 2009/2010.**

Position	Pays	Production (T)
1	Chine	1650000
2	Ethiopie	610845
3	France	438338
4	Egypte	297620
5	Maroc	153040
6	Australie	192000
7	Soudan	112500
8	Royaume-Uni	100000
9	Italie	97408
10	Tunisie	70210
11	Pérou	69634
12	République arabe syrienne	37782

### IV- Intérêts :

#### IV-1-Intérêt agronomique :

*Vicia faba* L. comme toutes les légumineuses, est considérée comme une bonne tête d'assolement pour le blé, elle rompt les cycles évolutifs des champignons parasites des céréales (piétin, fusariose,...). Elle amande le sol en azote qu'elle fixe grâce à la symbiose

qu'elle établit avec les bactéries du genre rhizobium via les nodosités au niveau de ses racines, soit un apport annuel de 20 à 40 kg c'est-à-dire un équivalent d'un quintal d'amonitrate 35%. Elle est introduite en rotation où elle joue un rôle non négligeable dans l'enrichissement des sols en azote.

(*Vicia faba* L.) est un engrais vert. La fertilisation des sols à base des engrais azotés est très coûteuse ce qui pousse les agriculteurs à pratiquer la rotation des fèves ou féveroles ou autre légumineuses en générale avec des céréales par exemple pour bénéficier de cette voie de fertilisation gratuite et naturelle. Elle améliore aussi la structure du sol grâce à son système racinaire puissant et dense. Les résidus des récoltes enrichissent le sol en matières organique.

#### **IV-2-Intérêt alimentaire :**

La fève *vicia faba* L. est un aliment nutritif idéal, Elle a une teneur en protéines élevée, 35% selon les géotypes. Les graines de *Vicia faba* minor, sont utilisées pour l'engraissement des animaux. L'évolution du niveau de consommation animale suit de près la tendance de la consommation humaine. Ainsi une contribution de la fève à l'alimentation animale est en augmentation. Toute fois, bien que très importante pour l'homme, sa production reste insuffisante pour satisfaire ses besoins. Cette insuffisance est occasionnée par les contraintes de diverses natures.

Selon **Gordon (2004)**, cette légumineuse est une excellente source de fibres solubles et insolubles, de glucides complexes, de vitamines (B9 et C) et de minéraux (en particulier le potassium, le phosphore, le calcium, le magnésium, le cuivre, le fer et le zinc) et elle a une teneur en protéine très élevée (Tableau 4).

**Tableau 4 : Composition chimique moyenne pour 100 g de fève (Fachmann et Kraut, 2006).**

<b>Compositions (g)</b>		<b>Vitamine (mg)</b>	
Glucides .....	10,0	Acide ascorbique.....	82,00
Protides .....	5,40	Provitamine A(carotène).....	0,100
Lipides .....	0,30	B1 (thiamine).....	0,300
Eau .....	82,0	B2 (riboflavine).....	0,200
Fibres alimentaire .....	6,50	B3 (nicotamide).....	1,800
<b>Minéraux (mg)</b>		<b>Apports énergétiques</b>	
Potassium .....	210,0	K calories.....	64,00
Phosphore .....	105,0	K joules.....	268,0
Calcium .....	24,0		
Magnésium .....	18,00		
Soufre .....	27,00		
Sodium .....	4,00		
Chlore .....	14,00		

**IV-3-Intérêt économique :**

La récolte mondiale des fèves s'élève à 4.75 millions de tonnes (**FAO, 2002**), dont : fèves vertes (1.02 millions de tonnes) et fèves sèches (3.73 millions de tonnes).

**IV-4-Intérêt écologique :**

Au plan agricole, la fève est un bon précédent cultural pour les cultures légumières (**SINGH et al. ,1982**).Et l'une des légumineuses les plus utilisées dans l'assolement des sols à faible pluviométrie (**JENSEN, 1986**) en fertilisant le sol par la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique grâce aux bactéries (en moyenne 150kg d'azote fixés /ha). (**OSMEN et al, 1986**).

**IV-5-Intérêt en éco toxicologie :**

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 Éco toxicologie dans un grand nombre d'études. La simplicité de son caryotype l'a faite élire Pour un grand nombre d'études de mutagénèse par le test des aberrations chromosomiques (**De Marco et al. 1995; Kanaya et al. 1994; Sang and Li 2004**). 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 (**Cotelle 1999; Degrassi and Rizzoni 1982; Duan et al. 1999; Marcato-Romain et al. 2009**).

Un autre test de génotoxicité, le test des comètes, est également pratiqué sur différents tissus de la plante (**Cotelle 1999; Koppen and Verschaeve 1996; Lin et al. 2007**).

*Vicia faba* est en outre aussi employée pour étudier les réponses des marqueurs du stress Oxydant (Radetski et al. 2004) et d'autres défenses antitoxiques de la plante comme les Phytochélatines (**Béraud 2007**).

La plupart des auteurs reconnaissent que *Vicia faba* L. est une plante très intéressante dans les études de génotoxicité.

# Chapitre III

## Matériel et méthode

**f-Matériel et méthode :**

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



**Figure 7 : La serre en verre de Mezaghran**

**I- Matériel :**

Matériel végétal utilisé :

Le matériel végétal retenu dans cette étude concerne une légumineuse, la fève (*Vicia faba L.*) variété super Aguadulce. Les graines sont choisies selon leurs tailles, l'état sanitaire et la couleur du tégument, puis conservées dans un réfrigérateur à 4°C.

**II- Méthodologie de travail :****II-1- Préparation des graines :**

Notre expérience est menée dans une serre de l'université d'Alger exactement à Hassi Mameche wilaya de Mostaganem en conditions contrôlées (température, humidité, luminosité).

Les graines de *Vicia faba L.* sont sélectionnées rigoureusement en fonction de leur morphologie, leur taille, leur couleur et leur état sanitaire.

Les graines de *Vicia faba L.* sont d'abord désinfectées dans l'eau de javel durant 5 min puis rincées à l'eau distillée pendant 1 min.



**Figure 8 :-graines de la fève (*Vicia faba* L.)**

Ces graines sont semées dans des alvéoles ne contenant que du terreau puis sont arrosées à l'eau distillée (pendant 15jours).après germination des graines, les plantules sont repiquées dans des pots.



**Figure 9 : plantules de la fève (*Vicia faba* L.)**

## II-2- Préparation du substrat de culture :

Le substrat utilisé correspond à un mélange de sable de terreau industriel à des proportions respectives de (2v/1v). Le sable est récupéré au bord de la plage de Ouillis de wilaya de Mostaganem.

Ce sable a subi plusieurs traitements successifs selon les étapes suivantes :

- différents types de tamis sont utilisés afin d'éliminer les débris de végétaux, animaux et gravier pour n'obtenir que du sable fin.
- lavage à l'eau de robinet pour éliminer les sels plusieurs fois.
- Le sable est ensuite épandu dans la serre, sur papier journal pour subir une phase de séchage complet.
- Après séchage, ce sable est lavé l'esprit de sel HCL dilué à 1/5 dans l'eau distillée pour éliminer les sulfates, carbonates....etc.
- puis des rinçages répétés à l'eau déminéralisée pour éliminer le chlore.
- Un test confirmatif de la désalinisation du sable est réalisé par le nitrate d'argent.
- Le sable est ensuite épandu à l'air libre, sur une couche de papier journal pour subir un séchage naturel. Ainsi préparé, le sable constitue un support inerte à la plante, aère les racines et présente l'avantage de ne pas fixer les ions (**DEMELON ,1968**).



**Figure 10 : préparation du substrat de culture (lavage du sable)**



**Figure 11 : préparation du substrat de culture (sable+terreau)**

### **II-3- Préparation des pots :**

Des pots en plastique de diamètre 20cm et de 30cm de hauteur, et un poids 3kg .les pots sont remplis d'un substrat composé d'un mélange sable-terreau (2volume de sable +1volume de terreau).le fond de chaque pot a été garni d'une couche de gravier afin d'assurer un bon drainage, sur cette couche est déposée une bande à gaze pour retenir le substrat.



**Figure 12: préparation des pots**

### **II-4- Repiquage des graines germées :**

Après germination ,les plantules de la fève sont repiquées soigneusement et mises en pots à raison d'une plantule par pot a une profondeur de 1cm avec un léger tracement immédiatement arrosées avec de l'eau distillée pour permettre un bon contacte sol-graine , puis déposées dans une serre située à Mazagran wilaya de Mostaganem.



**Figure 13: repiquage de graines germées dans les pots**

#### II-5- L'irrigation :

L'arrosage est fait 3 fois par semaine à 60% de la capacité de rétention du substrat soit environ 250 ml à l'eau distillée substituée une fois sur trois par une solution nutritive de Hoagland (1938) diluée au 1/1000<sup>ème</sup> couramment utilisée au laboratoire ; cet apport est conçu pour éviter l'épuisement des éléments nutritifs et l'accumulation de sels dans les substrats de culture par évaporation de l'eau jusqu'à l'obtention d'un matériel végétal suffisant pour faire les analyses.

#### Les composants de la solution nutritive :

Composants	Poids en g.l <sup>-1</sup>
<b>Macroéléments</b>	
Nitrate de potassium (KNO <sub>3</sub> )	191.9
Nitrate de calcium (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Ca 4H <sub>2</sub> O)	129.8
Nitrate d'ammonium (NO <sub>3</sub> NH <sub>4</sub> )	210
Sulfate de magnésium (SO <sub>4</sub> Mg 7H <sub>2</sub> O)	61.5
Phosphate monopotassique (PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K)	54.4
Di-potassium hydrogénophosphate (PO <sub>4</sub> K <sub>2</sub> H 3H <sub>2</sub> O)	34.23
<b>Oligoéléments</b>	
Chlorure de manganèse (Cl <sub>2</sub> Mn 4H <sub>2</sub> O)	1.8
Sulfate de cuivre (Cu SO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O)	0.176
Sulfate de zinc (Zn SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O)	0.219
Acide borique (H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )	2.861
Molybdate d'ammonium (MO <sub>7</sub> O <sub>24</sub> (NH <sub>4</sub> ) 7H <sub>2</sub> O)	0.285
Complexe ferrique EDTA (C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> FeN <sub>2</sub> NaO <sub>8</sub> )	0.05

**II-6- Application du stress :**

Aux 45 jours après le repiquage les pots sont répartis en sept traitements métalliques desquels nous avons utilisé le Cuivre ( $\text{Cu SO}_4$ ) et le Zinc ( $\text{Zn SO}_4$ ) chaque traitement comporte 4pots à raison de 4répitions.

Un premier traitement est irrigué à l'eau distillée substituée une fois sur trois par une solution nutritive de type Hoagland (1938).

Trois traitement subissent un ajout de 100, 300 et 500ppm de Cuivre ( $\text{Cu SO}_4$ ) dans l'eau d'arrosage afin d'apprécier le seuil de toxicité de ces deux éléments dans la plante expérimentée.

Dans les trois autres traitements, subissent un ajout de 300, 500 et 700ppm de Zinc ( $\text{ZnSO}_4$ ) dans l'eau d'arrosage afin d'apprécier le seuil de toxicité de ces deux éléments dans la plante.

Les prélèvements et analyses sont faits sur la partie aérienne et la partie racinaire deux semaines (15jours) après l'application du stress.

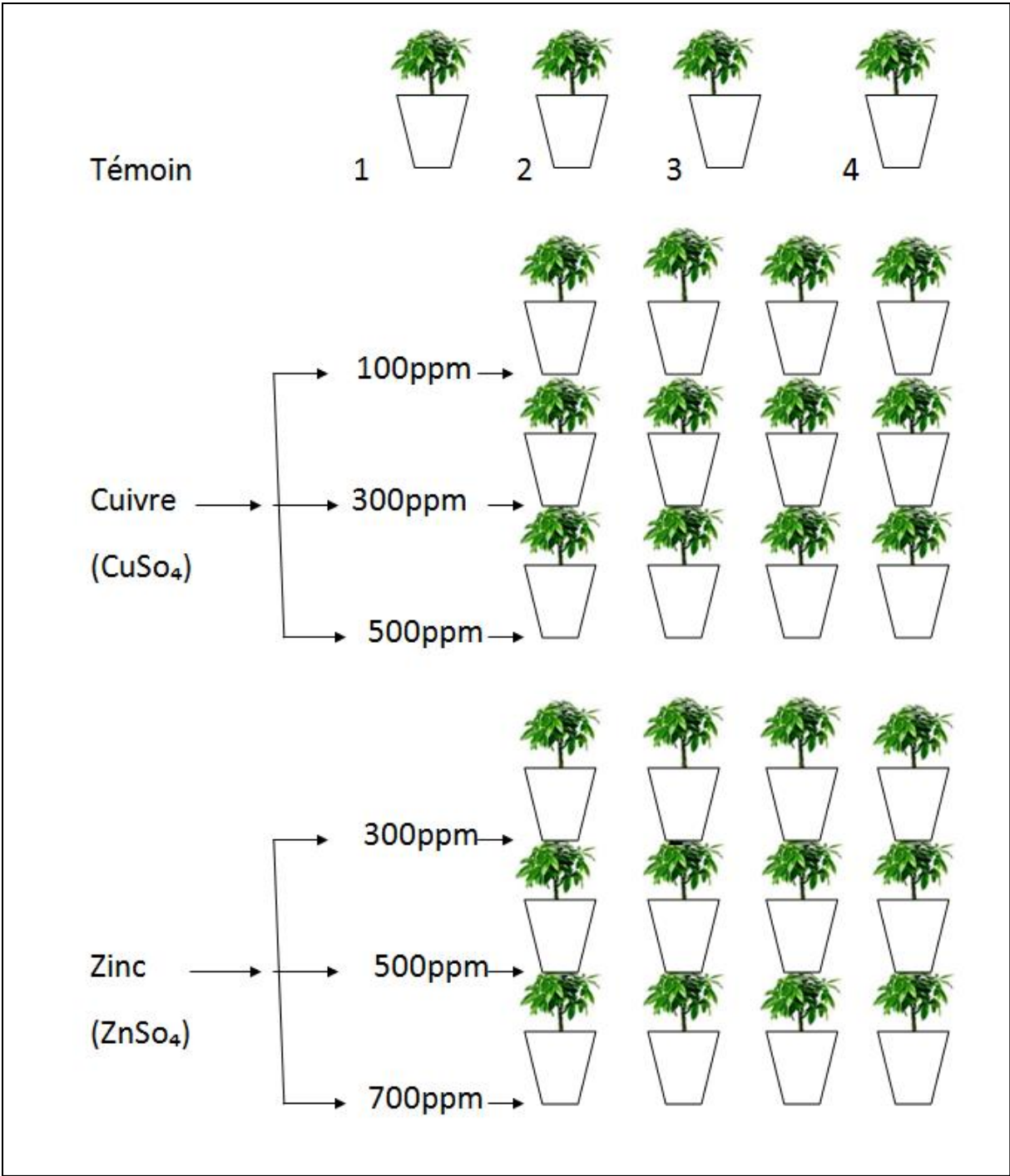


Figure 14 : Schéma du dispositif expérimental

**II-7- Prélèvement des échantillons :**

Nous avons procédé aux prélèvements des échantillons selon les étapes suivantes :

- ✓ Les plantes entières sont soigneusement prélevées, rincées à l'eau de robinet puis séchées rapidement à l'aide du papier Joseph.
- ✓ La partie aérienne est isolée de la partie souterraine.
- ✓ Chaque échantillon est enveloppé dans du papier aluminium puis le tout est déposé dans une étuve réglée à 80°C durant 48 heures. ensuite les échantillons sont mis dans des flacons fermés à l'aide d'un bouchon plasma, et placés au congélateur jusqu'aux analyses.



**Figure 15: prélèvement des plantes de la fève (*Vicia faba* L.)**



**Figure 16 : Rinçage des plantes de la fève (*Vicia faba* L.) avec l'eau de robinet.**

### III- Les paramètres mesurés :

Elle est réalisée par des observations des mesure biométrique sur les racines et physiologique (RWC) ainsi que le paramètre biochimique (la proline).

#### III-1- Paramètres biométrique :

##### III-1-1-Longueur racinaire (LR):

La longueur des racines est mesurée après déterrement et exprimée en Cm.

#### III-2-Paramètre physiologique :

##### III-2-1- La teneur relative en eau (RWC) :

Est déterminée selon la méthode de (**BARRS et WEATHERLEY., 1968 ; SCIPPA**).le limbe foliaire coupé à sa base, est immédiatement pesé pour déterminer le poids frais (PF).les feuilles sont ensuite placées dans un tube à essai contenant de l'eau distillée, puis maintenu à l'obscurité à 4°C pendant 12heures. Ces feuilles sont récupérées et essuyées délicatement avec un papier buvard et pesées à nouveau pour déterminer le poids en pleine turgescence (Ppt).le poids sec (PS) est déterminé après passage des feuilles dans une étuve pendant 48heures à 80°C.la teneur relative en eau est calculée par la formule suivante proposée par (**BARRS et WEATHERLEY.,1962**) adoptée plus tard par (**SCIPPA et al.,2004**).

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



Figure 17 : la teneur relative en eau (RWC)

**III-3- Les paramètre biochimique :****III-3-1-La proline (PRLN) ( $\mu\text{g} / \text{g MS}$ ) :**

La méthode utilisée pour doser la proline est celle de (**Troll et Lindsley. 1955**)

Modifiée par (**Dreier et Goring. 1974**), et ensuite par (**Monneveux et Nemmar .1983**). Elle consiste à prendre 100 mg du matériel végétal (1/3) médian de la feuille étandard. Puis à ajouter 2 ml de méthanol à 40% le tout est chauffé à 85°C dans un bain-marie pendant 60 mn. Après refroidissement, on prélève 1 ml d'extrait auquel on ajoute :- 1 ml d'acide acétique ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) ;- 25 mg de ninhydrine ( $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$ ) et 1 ml de mélange contenant : 120 ml d'eau distillée ; 300 ml d'acide acétique et 80 ml d'acide orthophosphorique ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ , d=1,7). Le mélange est porté à ébullition durant 30 min, la solution vire au rouge, après refroidissement, 5 ml de Toluène sont rajoutés à la solution qui est agitée, deux phases se séparent (une phase supérieure et une phase inférieure).

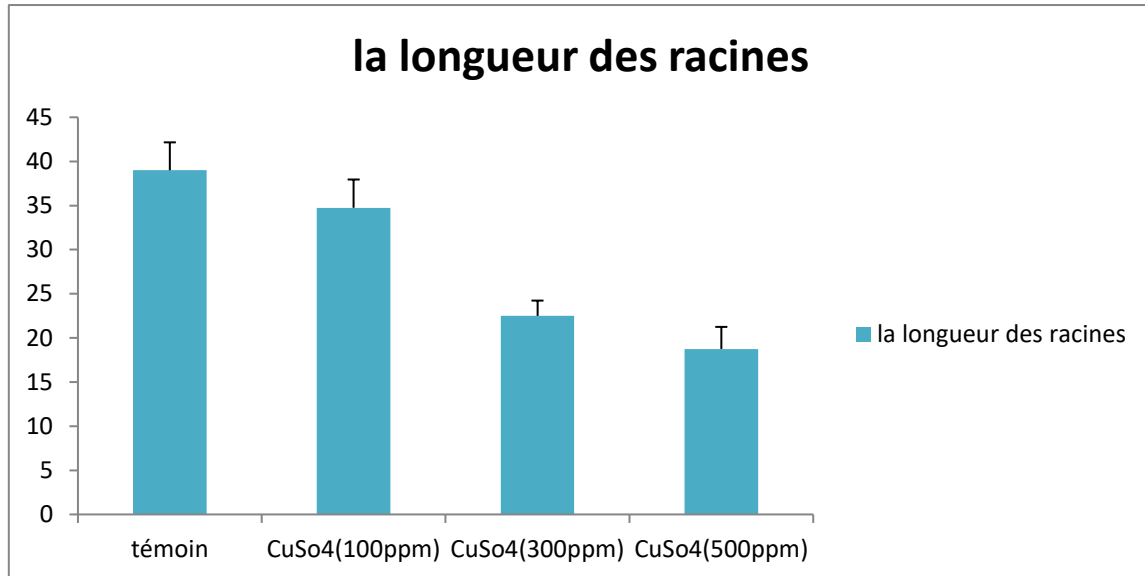
Après avoir éliminé la phase inférieure, la phase supérieure est récupérée et déshydratée par L'ajout d'une spatule de Sulfate de sodium  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre. On détermine la densité optique à 528 nm.

**IV- Analyse statistique :**

S'effectue par le calcul de la variance par l'indice de Fisher à seuil de probabilité  $p < 0,005$  (très hautement significatif),  $p < 0,01$  ( hautement significatif) et  $p < 0,05$  (significatif), ensuite si l'effet des facteurs étudiés est significatif on procédera à la comparaison entre les moyennes par le test de Newman-Keuls à seuil de probabilité  $p < 0,05$  , tous les traitements statistiques sont effectués par le logiciel (**statBox version 6,40 Pro**)

# Chapitre IV

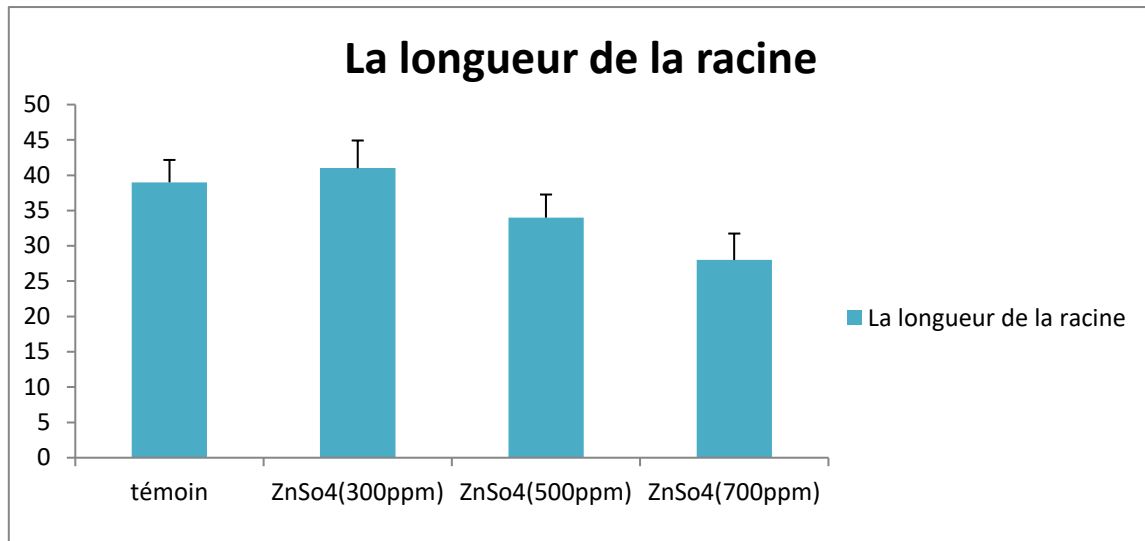
résultats et interprétation.

**I. Les paramètres biométriques :****I-2-La longueur des racines :****I-2-1- Effet du Cuivre (Cu So<sub>4</sub>):**

**Figure 18 : Effet du Cuivre (Cu So<sub>4</sub>) sur la longueur des racines de (*Vicia faba L.*) en fonction du temps.**

La figure 18 indique la longueur des racines pour les plantes témoins et les plantes stressées par le Cuivre en enregistrant comme moyenne 39 cm pour les plantes témoins, 34,75 cm pour (100ppm) , 22,5 cm pour (300ppm) et 18,78 cm pour (500ppm).on remarque aussi que la longueur des racines varie d'une plante à une autre elle diminue avec l'augmentation des doses du Cuivre.

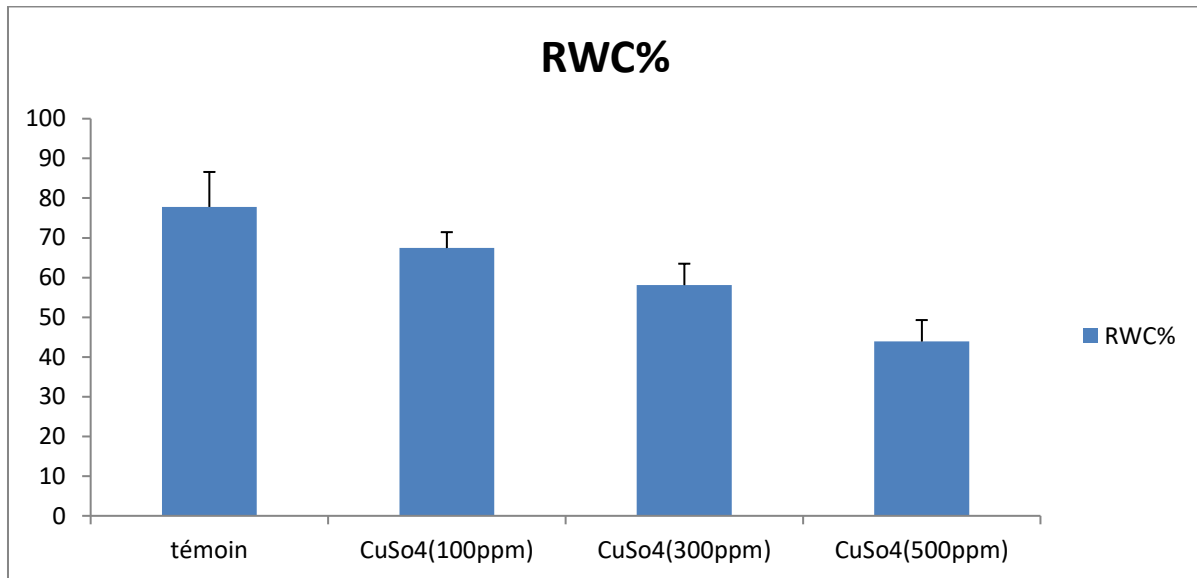
À travers le traitement statistique il est constaté qu'il existe une influence hautement significative du Cuivre la longueur des racines ( $p=0$ ).

I-2-2- Effet du Zinc ( $Zn\ So_4$ ):

**Figure 19 : Effet du Zinc ( $Zn\ So_4$ ) sur la longueur des racines de (*Vicia faba L.*) en fonction du temps.**

La figure 19 indique la longueur des racines pour les plantes témoins et les plantes stressées par le Zinc en enregistrant comme moyenne 39 cm pour les plantes témoins, 41 cm pour (300ppm), 34 cm pour (500ppm) et 28 cm pour (700ppm). on remarque aussi que la longueur des racines varie d'une plante à une autre elle progresse à (300ppm) après elle diminue avec l'augmentation des doses.

L'analyse statistique révèle un effet hautement significatif du Zinc sur la longueur des racines ( $p=0,0011$ ).

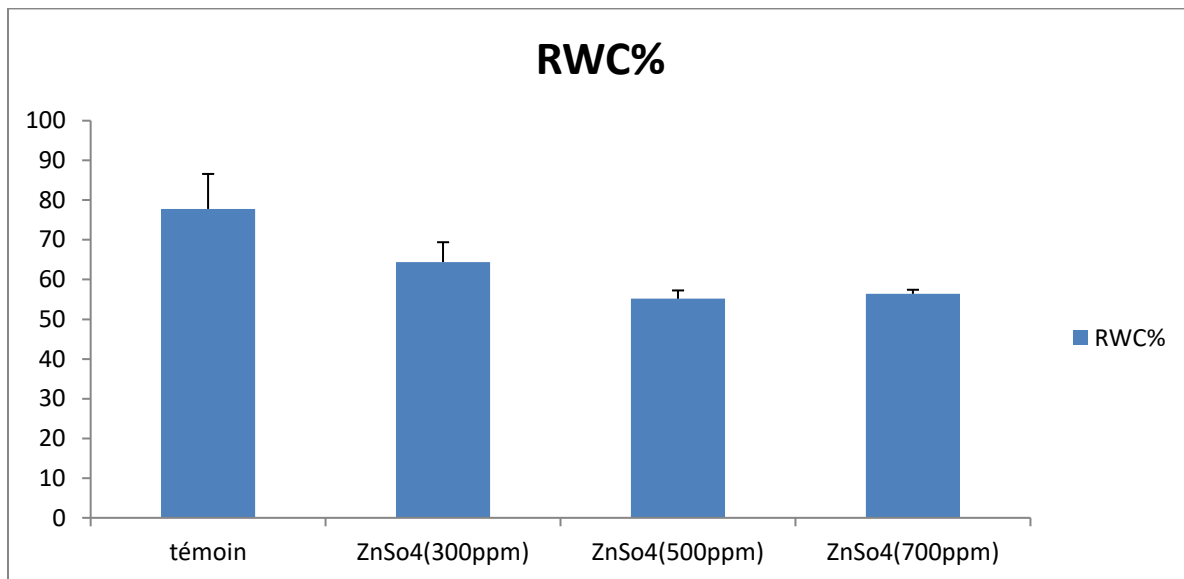
**II- Paramètre physiologique :****II-1- La teneur relative en eau (RWC) :****II-1-1- Effet du Cuivre (CuSo4) :**

**Figure 20 : Effet du Cuivre sur la teneur relative en eau (RWC%) de la plante (*Vicia faba L.*)**

Selon les résultats mentionnés dans la figure 20 , il en résulte que la présence du Cuivre ( $\text{Cu So}_4$ ) dans le milieu de culture des plantes introduit une diminution de la teneur relative en eau, cependant chez les plantes témoins on remarque que la teneur relative en eau est supérieure que celles des plantes stressées cette teneur est arrivé à 77,78% tandis qu'en présence du Cuivre ces valeurs ont baissés en enregistrant comme moyenne 67,44% pour  $\text{CuSo}_4$  (100ppm), 58,10% pour  $\text{Cu So}_4$  (300ppm) et 43,90% pour  $\text{Cu So}_4$  (500ppm) la teneur relative en eau diminue avec l'augmentation des doses du Cuivre.

L'analyse statistique révèle un effet très hautement significatif de l'augmentation de l'apport de Cuivre sur l'élaboration de la teneur relative en eau ( $p=0,00005$ ).

## II-1-2- Effet du zinc :



**Figure 21 : Effet du Zinc (Zn So<sub>4</sub>) sur la teneur relative en eau (RWC%) de la plante (*Vicia faba L.*)**

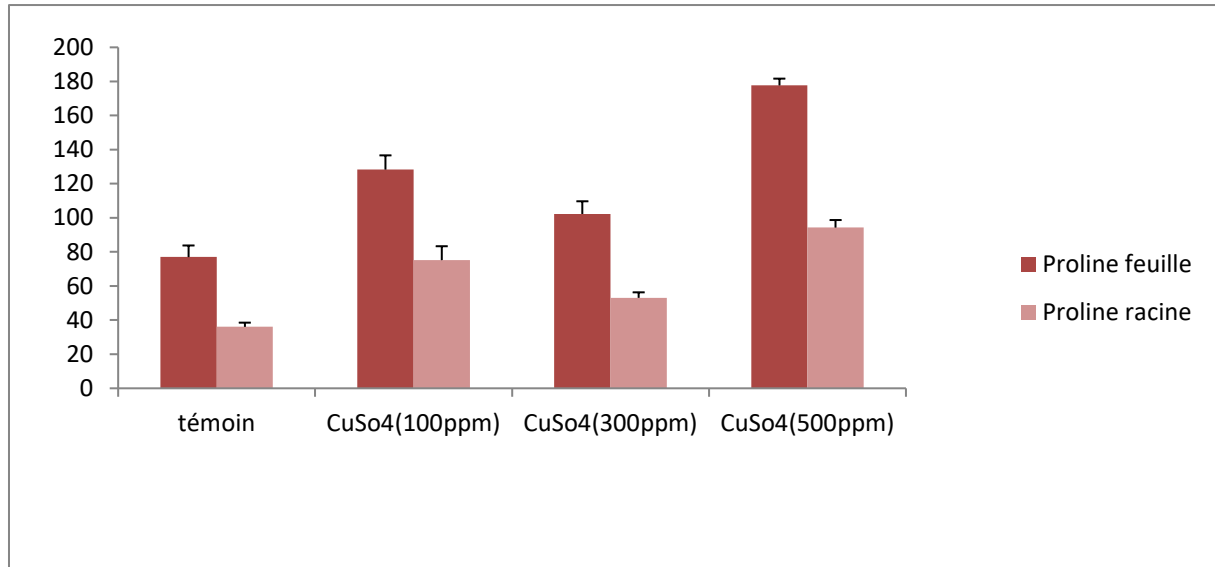
Selon les résultats mentionnés dans la figure 21 , il en résulte que la présence du Zinc(Zn So<sub>4</sub>) dans le milieu de culture des plantes introduit décroissance de la teneur relative en eau, cependant chez les plantes témoins on remarque que la teneur relative en eau est supérieur que celles des plantes stressées cette teneur est arrivé à 77,78% tandis qu'en présence du Zinc ces valeurs ont baissés en enregistrant comme moyenne 64,41% pour Zn So<sub>4</sub> (300ppm), 55,17% pour Zn So<sub>4</sub> (500ppm) et 56,40% pour Zn So<sub>4</sub> (700ppm) la teneur relative en eau diminue avec l'augmentation des doses du Zinc.

à travers le traitement statistique il est constaté qu'il existe une influence très hautement significatif du Zinc sur la teneur relative en eau ( $p=0,0002$ ).

### III- Paramètre biochimique :

#### III-1- La proline :

##### III-1-1- Effet du Cuivre (Cu So<sub>4</sub>) :

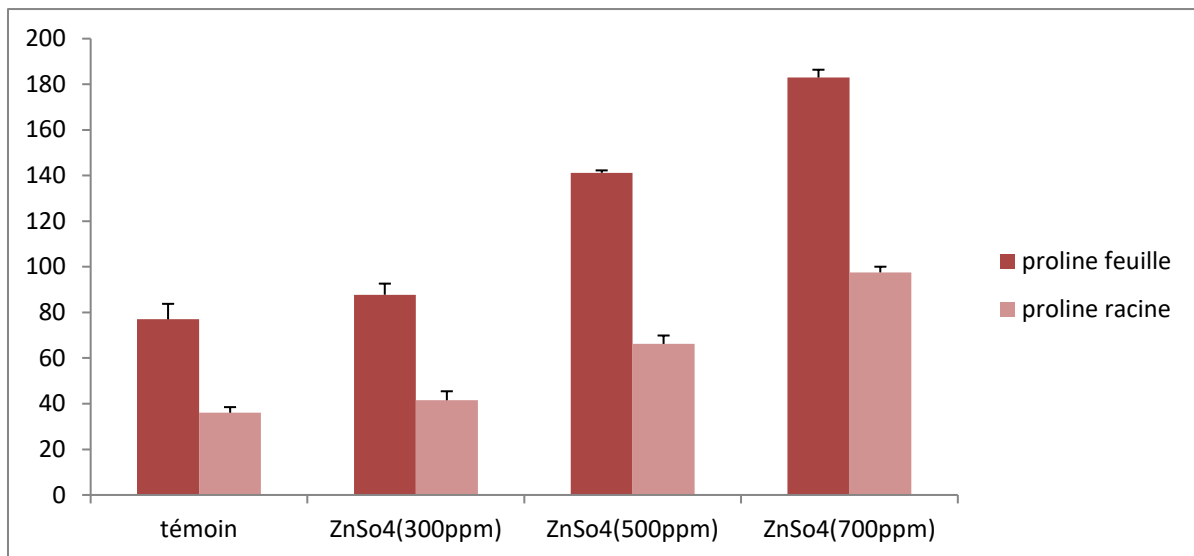


**Figure 22 : Effet du Cuivre (Cu So<sub>4</sub>) sur la teneur en proline de la plante (Vicia faba L.)**

D'une manière générale, la teneur en proline est beaucoup plus élevée dans la partie aérienne des plantes notamment dans les racines en enregistrant 76,99µg/g pour les plantes témoins, 128,29µg/g pour (100ppm), 102,26µg/g pour (300ppm) et 177,68µg/g, pour (500ppm) pour les feuilles et pour les racines en a obtenu 36,04µg/g pour les plantes témoins , 75,21µg/g pour (100ppm) , 53,05 µg/g pour (300ppm) et 94,28 µg/g pour (500ppm).

L'accumulation de ce composé aminé se produit dans le sens : feuilles-tiges –racines. Dans les feuilles des plantes témoins, aucune différence significative n'apparaît dans la teneur en proline, aussi bien chez les plantes traitées à 300 ppm de Cu So<sub>4</sub>; la teneur en proline dans les feuilles reste légèrement supérieure que dans les racines, l'accumulation de la proline varie dans le même rythme pour les plantes témoins. La proline analysée après l'application du stress métallique dans les organes des plantes de la fève Vicia faba L. est un indicateur de tolérance. Ce composé azoté caractérise la variabilité métabolique dans la réponse des plantes hautement stressées aux métaux lourds. Cette accumulation de la proline dans les plantes de la fève traduit, dans nos conditions expérimentales, une aptitude à la résistance des seuils de concentrations du Cuivre. Le taux de la proline augmente avec l'augmentation de la dose du Cuivre.

à travers le traitement statistique il est constaté qu'il existe une influence hautement significative du Cuivre sur la proline des feuilles et racines (p=0).

III-1-2- Effet du Zinc ( $Zn\ So_4$ ) :

**Figure 23 : Effet du Zinc ( $Zn\ So_4$ ) sur la proline de la plante (*Vicia faba L.*)**

La figure 23 nous indique que la teneur en proline est beaucoup plus élevée dans la partie aérienne (feuille) des plantes notamment dans les racines on a obtenu comme moyenne les résultats suivants  $76,99\ \mu\text{g/g}$  pour les plantes témoins,  $87,75\ \mu\text{g/g}$  pour (300ppm),  $141,21\ \mu\text{g/g}$  pour (500ppm) et  $182,97\ \mu\text{g/g}$  pour (700ppm) pour les feuilles et pour les racines on a obtenu  $36,04\ \mu\text{g/g}$  pour les plantes témoins,  $41,52\ \mu\text{g/g}$  pour (300ppm),  $66,19\ \mu\text{g/g}$  pour (500ppm) et  $97,57\ \mu\text{g/g}$  pour (700 ppm). L'accumulation de ce composé aminé se produit dans le sens : feuilles–racines. Dans les feuilles des plantes témoins; la teneur en proline dans les feuilles reste légèrement supérieure que dans les racines, l'accumulation de la proline varie dans le même rythme pour les plantes témoins. Le taux de la proline augmente avec l'augmentation de la dose du Zinc.

à travers le traitement statistique il est constaté qu'il existe une influence hautement significative du Zinc sur la proline des feuilles et des racines ( $p=0$ ).

### Discussion général :

Notre travail montre que l'augmentation de la concentration en cuivre et en zinc dans le substrat est accompagnée négativement de façon significative pour les paramètres biométriques (élongation racinaire de la plante (*Vicia faba L.*)

Dans le cas d'une exposition au Cu par la solution du sol, les plants concentrent tout d'abord le Cu dans les racines et ce sont les organes qui subissent en premier les impacts du Cu (**Cuyper 2000**) et qui sont plus atteints. **Lexmond et Vorm (1981)** ont montré que l'application des niveaux élevés du cuivre inhibe la croissance des racines avant d'affecter la production de la biomasse aérienne. Cependant, ça ne signifie pas nécessairement que les racines sont plus sensibles à des concentrations élevées du cuivre, 34,75 cm pour (100ppm), 22,5 cm pour (300ppm) et 18,78 cm pour (500ppm). Mais probablement, due en réalité que les racines sont dans un environnement où le cuivre est en excès. **D'après Pahlsson (1989)**, le cuivre généralement atteint le développement racinaire par l'inhibition de la croissance des

Chez les plantes non-tolérantes, l'inhibition de l'élongation racinaire et le dommage des membranes cellulaires des racines sont les réponses immédiates vis-à-vis des niveaux élevés du cuivre (**Wainwright et Woolhouse, 1977**). **Lidon et Henriques (1992)** ont reporté que la toxicité du Cu, est exprimée par la taille réduite des racines, apparaît comme le résultat direct de l'accumulation du Cu en excès dans les tissus.

Concernant le zinc l'augmentation de la croissance des parties racinaires, observées à la concentration de 300ppm, par rapport aux plantes témoins, peuvent être attribuées au fait que le Zn maintient son rôle d'oligoélément à de faibles concentrations (**Broadley et al, 2007**).

Sous l'application des doses faibles du zinc, l'amélioration du système racinaire aide la plante pour une meilleure absorption de l'eau et autres nutriments dissous qu'elle les contient et par conséquent améliore la croissance des différents organes et de la plante entière (**Reichman, 2002**). L'amélioration de l'efficacité de croissance des organes végétale pourrait également être due aux effets bénéfiques des traitements du zinc sur les activités physiologiques et autres réactions enzymatiques dans la transformation des carbohydrates et des activités de hexokinase de la plante qui sont responsables de la stimulation de la croissance de la plante et ses organes composants influençant finalement le développement relative des différentes parties de la plante et leur efficacité de croissance (**Vijayarengan et Mahalakshmi, 2013**). Une amélioration similaire de croissance et de la production due à l'application du zinc a été reportée par **Sivasankar et al (2012)**.

Ainsi la diminution de la longueur de la partie racinaire des plantes à une concentration élevée de zinc peut être causée par une réduction, soit du nombre de cellules de la plante. (**Nieman, 1965; Vijayarengan and Mahalakshmi, 2013**), soit de leur taille. (**Nieman, 1965; Hosseini and Poorakbar, 2013**). Il est connu que la réduction de la masse des parties racinaires limite l'absorption et la translocation des nutriments de l'eau, ce qui induit une carence en minéraux et une chlorose des feuilles. Ce sont les signes de la toxicité de la plante (**Foy, 1988**) et on a remarqué cette diminution à 500ppm et 700ppm.

Concernant les paramètres physiologiques étudiés, La teneur relative en eau RWC% représente un excellent indicateur physiologique. Pour estimer l'état hydrique des plantes en cas du stress, les résultats obtenus montrent que l'effet de cuivre et le zinc, diminuent la teneur relative en eau dans les plantes stressées aux concentrations (100ppm), (300ppm) et (500ppm) et (300ppm, 500ppm et 700ppm). Ces résultats sont conformes à ceux indiqués par **(Benouis, 2012)**, il a observé une faible diminution des teneurs relative en eau en fonction de l'augmentation des doses de cuivre chez la fève (Sidi aich et super aguadulce).

Plusieurs études ont mis en évidence une perturbation hydrique des plantes traitées aux métaux lourds. Elles ont principalement relevé une diminution de la transpiration et une diminution de la teneur en eau. En plus ces perturbations du statut hydrique conduisent à la fermeture des stomates qui va limiter les échanges gazeux avec l'atmosphère, et par conséquent les pertes d'eau par transpiration **(Azooz et al. 2011)**.

Concernant les paramètres chimiques les résultats moyens obtenus montrent que la plante de *Vicia faba L.* accumulent des quantités importantes de la proline dans leurs feuilles, et surtout dans des fortes doses en Cuivre (100ppm), (300ppm) et (500ppm) avec des moyennes comprises entre 128,29µg/g, 102,26µg/g et 177,68µg/g. Plusieurs études ont montrés que l'augmentation de la proline est due à une exposition au stress de Cuivre, chez *vicia faba L.* **(Aleksandra et al 2013)**, *Canavalia ensiformis*, et chez *Coffea arabica*, **(Andrade et al, 2010)**.

L'accumulation de la proline est couramment observée lors de stress environnementaux comme la présence de métaux lourds. Ainsi la proline est considéré comme un biomarqueur de stress **(Dinakar et al., 2008)** et considéré comme un chélateur de métaux et aussi un protecteur de la structure subcellulaire cela est lié à son rôle protecteur de soluté compatible impliqué dans la stabilisation des membranes et des protéines **(Okuma et al., 2002)**.

Par ailleurs, la proline est considérée comme agent adaptatif et marqueur de stress favorable. Différentes fonctions sont attribuées à l'accumulation de ce soluté telles que: l'osmorégulation, la chélation et détoxification des métaux, notamment du zinc et du nickel **(Bert, 2000 ; Sun et al., 2007)**, la protection des enzymes, la régulation de l'acidité cytosolique, la stabilisation des réactions de la synthèse protéique et piégeage des espèces réactives à l'oxygène (ROS), assurant ainsi une protection des constituants cellulaires. **(Sharmila et Pardha Saradhi, 2002)**. Pour le zinc les mêmes remarques sont observés une augmentation de la proline en fonction des doses (300ppm, 500ppm et 700ppm).

## Conclusion

A travers ce travail, nous avons pu recueillir un peu de données intéressantes concernant les effets du cuivre et du zinc sur les paramètres biométriques, physiologique et biochimique de la plante *Vicia Faba L.* soumises à différentes concentrations du cuivre (100ppm, 300ppm et 500ppm) et du zinc (300ppm, 500ppm et 700ppm).

L'étude de l'effet des métaux lourds (cuivre et zinc) sur le paramètre morphologique de la fève *Vicia faba L.*, comme l'élongation des racines a révélé qu'il exerce un effet négatif sur ce paramètre à partir des 100 ppm du cuivre et 500 ppm pour le zinc.

Concernant le paramètre chimique, l'accumulation des deux métaux dans la partie racinaire de la plante *Vicia faba L.* augmente au fur et à mesure que leur grandeur dans le substrat augmente, pour la proline.

Par contre le paramètre physiologique RWC diminue avec l'augmentation des concentrations du Cuivre et Zinc.

Et pour terminer, les observations réalisées durant notre travail ont révélé que la présence du cuivre et du zinc dans le milieu en cas d'excès ils engendrent des perturbations multiples sur le fonctionnement général des plantes testées, allant jusqu'à la mort. Sur le plan de toxicité, le cuivre se trouve plus toxique que le zinc car le seuil de phytotoxicité du cuivre est à 100ppm tandis que le zinc est à 500ppm.

## Références bibliographiques :

---

### Références bibliographiques :

**JADEME**.1990 : Connaissance et maîtrise des aspects sanitaires de l'épandage des boues

**Robert, M., 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

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

**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.

**Ali, N. A., Bernal, M. P., et Ater, M.** (2002). "Tolerance and bioaccumulation of copper in *Phragmites australis* and *Zea mays*." *Plant and Soil*, 239(1), 103-111.

**Allan DL and Jarrell WM** (1989) Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls. *Plant Physiology* 89, 823–832 .

**Alloway BJ** (1995) Heavy metals in soils. 2nd Edition, Blackie Academic and Professional, London, 368 pp.

**Alloway, B.J.**, 1995. Soil processes and the behaviour of heavy metals. In: Alloway, B.J. (Ed.). Heavy metals in soils. Chapman & Hall, London, pp. 11-35.

**Arru, L., Rognoni, S., Baroncini, M., Bonatti, P. M., et Perata, P.** (2004). "Copper localization in *Cannabis sativa* L. grown in a copper-rich solution." *Euphytica*, 140(1-2), 33-38.

**ASHLEY J.T.F.** Adsorption of Cu(II) and Zn(II) by estuarine, riverine and terrestrial humic acids, *Chemosphere*, 1996, Vol.33, No. 11, pp. 2175-2187 .

**Azzouz MM ; Youcef MM ; Al-Omarair MA**,2011. Comparative evolution of zinc and lead and their synergistic effects of growth and some physiological responses of Hassawi Okra (*Hibiscus esculentus* ) seedling american journal of plant physiology 6(6) :269-282.

**B.V. Rotterdamseweg** ,*Water Treatment & Purification*,1999, The Netherlands.

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

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

**Baize, D.**, 1997. Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). INRA Éditions, Paris, 410 p.

## Références bibliographiques :

---

- Baker A.J.M Reever R.D and Hajer A.S.M** Heavy accumulation and tolerance in british popilation of the metallophyte *Thrapsi caerulescens* (Brassicaceae) new physiologist 127:61-68.
- Baker DE and Senft JP** (1995) Copper. In: Heavy metals in soils (Alloway Ed), 2nd Edition, Blackie academic & professional, 368 pp.
- Baker, A. J. M., et Walker, P. L.** (1990). "Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants." Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects. , A. J. Shaw, ed., CRC press, Boca Raton, Florida, pp155-177.
- BAMOUH** 1994 situation actuelle et perspectives de développement de légumineuses alimentaires au Maroc. P . 12-16 , actes de séminaire Européo – Maghrébin sur les légumineuses à grosses graines .
- Barber S.A., Silberbush M.**, 1984. Chapter 4 :Plante morphology and nutrient uptake. In : Roots, nutrient, water influx and plant growth. Madison, Etats-Unis, 65-87 .
- Behanzin, G.J., Adjou, E.S., Yessoufou, A.G., Ahoussi, E.D., Sezan, A.**, 2015. Effet des sels de métaux lourds (chlorure de Cobalt et chlorure de Mercure) sur l'activité des hépatocytes. J. Appl. Biosci. 83, 7499–7505.
- Ben Hassine. A et Bouzid S.**,2008. Evaluation des capacités de résistance de d'hatriplex *Halimus L.*face au cadmium *Geo-Eco-Trop* 32 :17-20.
- Ben Hassine.A et Bouzid S.**, 2008 Evaluation des capacités de resistances d'AtriplexhalimusL.Face au cadmium *Geo-Eco-Trop* ; 32 : 17-20 .
- Béraud E.** 2007. Etude des effets génotoxiques et de l'induction des phytochélatines chez *Vicia faba* (Fabaceae) exposée au cadmium. Application du test *Vicia-micronoyaux* à des matrices complexes. Metz: Université de Metz. 107 p.
- Berg, J. M., et Y. Shi.** 1996. «The galvanization of fbiology: a growing appreciation for the roles of zinc». *Science*, vol. 271 , no 5252, p. 1081-1085.
- Berlett B.S. et Stadtman E.R.**, 1997- Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. *Am. Soc. Biochem. Biol. Mol.* 272: 20313-20316.
- Bert V., Macnair M., Laguerie D., Saumitou L., P.**, 2000- Zinc tolerance and accumulation in metallicolous and non-metallicolous populations of *Arabidopsishalleri* (Brassicaceae). *New Phytol.* 146, 225-233.
- Boawn, L. C., & Rasmussen, P. E.** (1971). Crop response to excessive zinc fertilization of alkaline soil. *Agronomy Journal*, 63(6), 874–876.
- Bond & Poulsen**, 1983                      Bond D.A., Poulsen M.H. 1983. Pollination. In: *The Faba Bean (Vicia faba L.)*. Hebblethwaite P.D. (ed), Butterworth, London, 77-101.

## Références bibliographiques :

---

**Bourrelrier P et J Berthelin** 1998. "Contamination des sols par les éléments traces : les risques et leur gestion." Rapport de l'Académie des sciences Ed. Lavoisier, Paris.

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

**Bowen JE** (1969) Absorption of Copper, Zinc and Manganese by sugar cane tissue. *Plant Physiol* 44, 255-261.

**Boyeldiou J.** (1991): Produire des grains oléagineux et protéagineux, *Revue CETIOM* n°209 pp25-30

**Bradl HB** (2005) Individual Behaviour of Selected Heavy Metals. *Heavy Metals in the Environment* (Bradl, H. B. eds.), (Vol. 6). Elsevier Academic Press, p. 139-143.

**Briat, J.F., Lebrun, M.,** 1999. Plant responses to metal toxicity. *Plant Biology and Pathology* 322, 43-54.

**Broadley, M. R., White, P. J., Hammond, J. P., Zelko, I., & Lux, A.** (2007). Zinc in plants. *New Phytologist*, 173(4), 677–702.

**Carroll, M. D., & Loneragan, J. F.** (1968). Response of plant species to concentrations of zinc in solution. I. Growth and zinc content of plants. *Crop and Pasture Science*, 19(6), 859–868.

**CASAS, Stello.** Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen. Thèse de doctorat : Océanologie biologique, Environnement marin. 2005,314p.

**Cathala DA, Salsac L** (1975) Absorption du cuivre par les racines de maïs et de tournesol. *Plant Soil*, 42, 65-83.

**CAVALLARO N. et MCBRIDE M.B.** Zinc and copper sorption and fixation by acid clay soil : effect of selective dissolution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 1984, Vol. 48, pp. 1050-1054.

**Cetois A, Quesnoit M and Hinsinger P** (2003) Soil copper mobility and bioavailability – A review, 110 p.

**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 .

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

## Références bibliographiques :

---

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

**Chaney, R. L.** (1993). Zinc phytotoxicity. In *Zinc in soils and plants* (pp. 135–150).

**Chaoui A., Mazhoudi S., Ghorbal M., El Ferjani E.**, 1997- Cadmium and Zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean, *Plant Science*127:139-147.

**Chaudhry FN, Loneragan JF** (1972) Zinc absorption by wheat seedlings. *Soil Sci Soc Am Proc*, 36, 323-331.

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

**CIC** (Centre d'Information du Cuivre) (2004). Le cuivre dans la construction. Santé et environnement. Livre Blanc, [www.cuivre.org](http://www.cuivre.org)

**Claire-Emmanuelle MARCATO** 2007, origine, devenir et impact du cuivre et du zinc des lisiers porcines. Rôle de la digestion anaérobie; thèse doctorat, Institut polytechnique Toulouse .

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

**Clemens, S.** (2001). "Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis." *Planta*, 212(4), 475-486.

**Coïc Y., et Coppenet M.**, 1989 Les oligo-éléments en agriculture et élevage. INRA. Paris : 113 p.

**Cotelle S, Férard JF.** 1999. Comet assay in genetic ecotoxicology: A review. *Environ. Mol. Mutag.* 34(4):246-255.

**Crews et Peoples**, 2004        Crews, T.E., Peoples, M.B., 2004. Legume versus fertilizer sources of nitrogen: ecological tradeoffs and human needs. *Agric. Ecosyst. Environ.* 102., 279–297.

**Crine M**, Le traitement des eaux industrielles chargées en métaux lourds. *Turbune de l'eau*, N°.561 (1993) 3-19.

**Cuypers A**,2000 .Phytotoxic concentrations of copper and zinc induce anioxidative defense in *Phaseolus vulgaris* , cv. Limburgse vroege a compative study .Limburgs universitair centrum, Dipenbeek ,Belgium.

## Références bibliographiques :

---

**Cuypers, A., Koistinen, K. M., Kokko, H., Karenlampi, S., Auriola, S., et Vangronsveld, J.** (2005). "Analysis of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins affected by copper stress." *Journal of Plant Physiology*, 162(4), 383-392.

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

**Degrassi F, Rizzoni M.** 1982. Micronucleus test in *Vicia faba* root tips to detect mutagen damage in fresh-water pollution. *Mutat. Res.-Environ. Mutag. Related Subj.* 97(1):19- 33.

**Delas J** (1967) Liaisons entre cuivre et matière organique dans un podzol développé sur sable des Landes et accidentellement enrichi en cuivre. *Ann Agron*, 18, 17-29.

**Deneux-Mustin S., Roussel-debet S., Mustin C., Henner P., Munier-Lamy C., Colle C., Berthelin J., Garnier-Laplace J., leyval C.,** 2003 Mobilité et transfert racinaire des éléments en traces : influence des micro-organismes du sol. Lavoisier. Londre-Paris- New York. 281 p.

**Dhaou-El-Djabin K.**(2005).« Evaluation et comportement des métaux lourds(Cd – Cr – Cu – Ni – Pb – Zn et Mn) dans les sols a vocation agricole et a végétation naturelle soumis à une pollution atmosphérique » Thèse de Magister de l'université de Mentouri de Constantine - Algérie.

**Drouineau G, Mazoyer R** (1962) Contribution à l'étude de la toxicité du cuivre dans les sols. *Ann Agron*, 13, 31-53 .

**Duan C-Q, Hu B, Jiang X-H, Wen C-H, Wang Z, Wang Y-X.** 1999. Genotoxicity of water samples from Dianchi lake detected by the *Vicia faba* micronucleus test. *Mutat. Res.-Fundam. Mol. Mech. Mutag.* 426(2):121-125.

**Dučić T and Polle A** (2005) Transport and detoxification of manganese and copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17, 103–112 .

Effect of salinity on the functional components of the soybean-Rhizobium japonicum symbiosis , *crop sci* .23. p 815-818 .

**EINICKER-LAMAS M., ANTUNES MEZIAN G., BENEVIDES FERNANDES - T., SILVA F.L.S, GUERRA F. et al.** *Euglena gracilis* as a model for study of Cu<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> toxicity and accumulation in eukaryotic cells. *Environmental Pollution*, 2002, Vol. :120, pp. 779- 786.

**EL ZAHABY M.** Contribution à la définition d'une norme des sites pollués. Elaboration d'une méthodologie pour l'évaluation de la contamination d'un sol par éléments traces, Thèse INPL. Nancy : INPL, 1998, 210p.

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

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

## Références bibliographiques :

---

**FEIX I., WIART J.** Connaissance et maîtrise des aspects sanitaires de l'épandage des boues d'épuration des collectivités locales. Paris : Ministère de l'agriculture et de la pêche, 1998, 74p.

**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.

**Finney, L.A., et O'Halloran, T.V.** 2003. Transition metal speciation in the cell: insights from the chemistry of metal ion receptors. *Science* 300, 931-936.

**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.

**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 système de détoxification chez *Vicia faba* Fabaceae dans le cadre de l'évaluation des sols pollués . Thèse de doctorat , Université Paul Verlaine \_Metz.p245.

**Foy, C. D., Chaney, R. L. t, & White, M. C.** (1978). The physiology of metal toxicity in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 29(1), 511–566.

**Gallais, A., and Bannerot, H.** (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées : objectifs et critères de sélection. Paris: INRA, 768 pp.

**Garty, J., Karary, Y., Harel, J.,** 1992. Effect of low pH, heavy metals and anions on chlorophyll degradation in the lichen *Ramalina duriaei* (De Not.) Bagl. *Environ. Exp. Bot.* 32, 229–241.

**Gilkes, R. J.** (1981). Copper in soils and plants, J. F. Loneragan, Robson, A. D., Graham, R. D., eds., Academic Press., New York, 97-117.

**Giordano PM, Noggle JC, Mortvedt JJ** (1974) Zinc uptake by rice as affected by metabolic inhibitors and competing cations. *Plant Soil*, 41, 637-646.

**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.

**Greger, M.,** 1999. Metal availability and bioconcentration in plants. In: Prasad, M.N.V. & Hagemayer, J. (Eds.). *Heavy metal stress in plants: From molecules to ecosystems.* SpringerVerlag, Berlin, pp. 1-27.

**Guen J. et Duc G.** (1996) Le Guen J et Duc G. 1996. La Féverole. In : *Amélioration des Espèces Végétales Cultivées : Objectifs et Critères de Sélection.* A. Gallais et H. Bannerot (Eds), 189-203.

## Références bibliographiques :

---

**Guerinot, M.L.**, 2000. The ZIP family of metal transporters. *Biochim. Biophys. Acta BBABiomembr.* 1465, 190–198.

**Guillet B, Jeanroy E, Rougier RC, Souchier B** (1980) Le cycle biogéochimique et la dynamique du comportement des éléments-traces (Cu, Pb, Zn, Ni, Co, Cr) dans les pédogenèses organiques acides. Rapport ATP «Formation et distribution des gisements», Note tech sci centre de pédologie, Nancy, 27, 49.

**GUNNAR, F. NODBERG. BRUCE, A. NODBERG F,W. FRIBERG L.** Handbook on the toxicologie of metals. 3eme edition. Academic Press, 25 juin 2007. 1024 p. ISBN: 978-012369413.

**HATIRA A., GALLALI T., ROUILLER J., GUILLET B.** Stabilité et solubilité des complexes formés entre le cuivre, le plomb, le zinc et les acides fulviques. *Science du Sol.*, 1990, Vol. 28, pp. 125-135.

**Hill JM** (1973) The changes with age in the distribution of Copper and some Copper-containing oxidases in red clover (*Trifolium pratense* L cv Dorset Marlglass). *J Exp Bot*, 24, 525-536 .

**hite MC, Decker AM, Chaney RL** (1981) Metal complexation in xylem fluid. *Plant Physiol*, 67, 292-310 .

**Hodgson JF, Lindsay WL, Trierweiler JF** (1966) Micronutrient cation complexing in soil solution. II. Complexing of Zinc and Copper in displacing solution from calcareous soils. *Soil Sci Soc Am Proc*, 30, 723-726.

**IZA.** 2011. International Zinc Association Website. <http://www.zinc.org>

**J, E Greedon, <> ED.R. BRUCE Keng, John Wiley & Sons,** 1994 (ISBN0471936200).

**Jarvis SC** (1978) Copper uptake and accumulation by perennial Ryegrass grown in soil and solution culture. *J Sci Food Agric*, 29, 12-18.

**Jennifer S pero, Blla devito, louis theodore, regulatory Chimecals hand Book, CRC press,** 2000, 1036(ISBN0824703901).

**JENSEN,**1986 symbiotic N<sub>2</sub> fixation in pea and field bean estimated by N<sub>15</sub> fertiliser dilution in field expiriment with barley as a référence crop . *plant and soil* , 92 , p3-13.

**Jondreville C., Revy P.S., Dourmad J.Y.**, 2003. Dietary means to better control the environmental impact of copper and zinc by pigs from weaning to slaughter. *Livestock Production Science*, 84, 147-156.

**JUSTE C.** Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduares des stations d'épuration urbaines, Convention ADEME-INRA. Angers : ADEME éd., 1995, 209 p.

**Kabata-Pendias A, Pendias H** (1984) Trace elements in soils and plants. CRC Press, 315 pp

## Références bibliographiques :

---

**Kabata-Pendias A., Pendias H.**, 1992. Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Raton, Florida, 2<sup>nd</sup> Edition, 209 p.

**Kabata-Pendias et Pendias**, 1991 .Trace elements in soils and plants. 2e éd. CRC Press, Boca Raton, FL.

**Kabata-Pendias, A., Pendias, H.**, 2001. Trace elements in soils and plants. 3rd CRC Press, Boca Raton, London, New-York, Washington D.C.

**Kabata-Pendias, A., Pendias, H.**, 2001. Trace elements in soils and plants. 3rd CRC Press, Boca Raton, London, New-York, Washington D.C.

**Kanaya N, Gill BS, Grover IS, Murin A, Osiecka R, Sandhu SS, Andersson HC.** 1994. Vicia faba chromosomal aberration assay. Mutat. Res.-Fundam. Mol. Mech. Mutag. 310(2):231-247.

**Kaplan M. Sonmez S., Sonmez NK. and Kaya H.** (2010). Influence of copper and sulphur applications on the growth and nutrient contents of tomato plants. Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.8 (3&4): 728-732.

**Karataglis S. and Babalonas D.** (1985). The toxic effects of copper on the growth of Solanum lycopersicum L. collected from Zn and Pb soil. Angewandte Botanik, v.59, p.45-52.

**Keller P, Deuel H** (1958) Cation exchange equilibrium with dead plant roots. Trans Comm II and IV Soc Soil Sci, Verlag Chemic Weinheim Hamburg, 2, 164-168.

**Khudsar T., Uzzafar Mahmood, Iqbal M. and Sairam R.K.** (2004). Zinc-induced changes in morpho-physiological and biochemical parameters in Artemisia annua. Biologia Plantarum, 48 (2): 255-260,

**Kim B, McBride MB & Hay AG.** 2008. Urease activity in aged copper and zinc-spiked soils: relationship to CaCl<sub>2</sub>-extractable metals and Cu<sup>2+</sup> activity. Environmental Toxicology and Chemistry 27: 2469-2475.

**Koch K.E.** (1996) Carbohydrate-Modulated gene expression in plants. Ann.Rev.Plant Physiol.plant.Mol.47: 509- 540.

**Komarek, M., Cadkova, E., Chrastny, V., Bordas, F., et Bollinger, J. C.** (2010). "Contamination of vineyard soils with fungicides: A review of environmental and toxicological aspects." Environment International, 36(1), 138-151.

**Koppen G, Verschaeve L.** 1996. The alkaline comet test on plant cells: A new genotoxicity test for DNA strand breaks in Vicia faba root cells. Mutat. Res.-Environ. Mutag. Related Subj. 360(3):193-200.

**Krupka. KM.**(1999).Understanding variation in partition coefficient, kd, Values.Environmental protection Agency.

## Références bibliographiques :

---

**Kupper, H., Gotz, B., Mijovilovich, A., Kupper, F. C., et Meyer-Klaucke, W.** (2009). "Complexation and Toxicity of Copper in Higher Plants. I. Characterization of Copper Accumulation, Speciation, and Toxicity in *Crassula helmsii* as a New Copper Accumulator." *Plant Physiology*, 151(2), 702-714.

**LACOUÉ-LABARTHE, Thomas.** Incorporation des métaux dans les œufs de la seiche commune *Sepia officinalis* et effets potentiels sur les fonctions digestives et immunitaires. Thèse de doctorat : Océanologie Biologique & Environnement Marin. 2007, 200 p.

**Lamb DT, Ming H, Megharaj M & Naidu R.** 2009. Heavy metal (Cu, Zn, Cd and Pb) partitioning and bioaccessibility in uncontaminated and long-term contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials* 171: 1150-1158.

**Laumonier, R.** (1979) culture légumière et mari chaires, tome iii. ed.j.b . baillier, 276 pp.

**Le coz C., Tassin B., et Thévenot D.,** 1996 Transfert des polluants dans les hydrosystèmes : presse de l'école nationale des ponts et chaussées. Paris. 140p.

**Leep NW** (1979) Cycling of Copper in woodland ecosystems. In : Copper in the environment. Part / (JO Nriagh ed) Wiley, New-York, 289-323.

**LETEINTURIER, B** 2002, Evaluation du potentiel phytocénotique des gisements cuprifères d'Afrique centro-australe en vue de la phytoremédiation des sites pollués par l'activité minière, thèse de doctorat, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Gembloux.

**Lexmond T.M., Van Der Vorm P.D.J..** (1981).The effect of pH on copper toxicity to hydroponically grown maize. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, v.29, p.217-238.

**LI L.Y. and LI R.S.** The role clay minerals and the effect of H<sup>+</sup> ions on removal of heavy metal (Pb<sup>2+</sup>) from contaminated soils. *Can. Geotech.*, 2000, No. 37, p. 267 –307.

**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.

**Lidon FC. and Henriques FS.** (1992). Copper toxicity in rice: Diagnostic criteria and effect on tissue Mn and Fe. *Soil Sci.* 154, 130–135.

**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.

**Linder, M. C. et Hazegh-Azam, M.** (1996). Copper biochemistry and molecular biology. *The American journal of clinical nutrition*, 63(5):797S–811S.

## Références bibliographiques :

---

- Liu, D. H., et Kottke, I.** (2004). "Subcellular localization of copper in the root cells of *Allium sativum* by electron energy loss spectroscopy (EELS)." *Bioresource Technology*, 94(2), 153-158.
- Lock K & Janssen CR.** 2005. Influence of soil zinc concentrations on zinc sensitivity and functional diversity of microbial communities. *Environmental Pollution* 136: 275-281.
- 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, L. Q., Shen, Z. G., et Li, X. D.** (2004). "The copper tolerance mechanisms of *Elsholtzia haichowensis*, a plant from copper-enriched soils." *Environmental and Experimental Botany*, 51(2), 111-120.
- Loue A** (1986) *Les oligo-éléments en agriculture*. Agri-Nathan, 339 pp.
- Loué A.**, 1993 *Oligo-éléments en agriculture*. Nathan : SCPA. 210p.
- Loué A.**, 1993. *Oligoéléments en agriculture*. Editions Nathan, 577 p.
- MAATOUGUI**,1996 –situation de la culture des fèves en Algérie et perspectives de relance . Doc.RONEO .I.T.G.C . Alger .
- Mac Bride MB, Blasiak JJ** (1979) Zinc and Copper solubility as a function of pH in an acid soil. *Soil Sci Soc Am Proc*, 43, 866-870.
- Manceau, A., Nagy, K. L., Marcus, M. A., Lanson, M., Geoffroy, N., Jacquet, T., et Kirpichtchikova, T.** (2008). "Formation of metallic copper nanoparticles at the soilroot interface." *Environmental Science & Technology*, 42(5), 1766-1772.
- Marcato, C.-E.**, 2007. *Origine, devenir et impact du cuivre et du zinc des lisiers porcins. Rôle de la digestion anaérobie.*
- Marcato-Romain C-E, 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(3):345-350.
- Marschner H** (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd edn. London, UK, Academic Press. 889 p.
- Marschner, H.** (2011). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Academic press.
- Massey HF, Loeffel A** (1967) Species specific variations in Zinc content of corn kernels. *Agron J*, 214-217.
- MATTHIESSEN P., REED J., JOHNSON M.** Sources and Potential effects of Cooper and Zinc Concentrations in the Estuarine Waters of Essex and Suffolk, United Kingdom. *Marine Pollutin Bukketin*, 1999, Vol. : 38, pp. 908-920.

## Références bibliographiques :

---

**MATTHIESSEN P., REED J., JOHNSON M.** Sources and Potential effects of Cooper and Zinc Concentrations in the Estuarine Waters of Essex and Suffolk, United Kingdom. *Marine Pollutin Bukketin*, 1999, Vol. : 38, pp. 908-920.

**McBride MB** (2001) Cupric ion activity in peat soil as a toxicity indicator for maize. *Journal of Environmental Quality* 30, 78–84.

**Mengel K, Kirkby EA** (1982) Principles of plant nutrition. Int Potash Inst, 3e édit 655 pp

**Mocquot B, Vangronsveld J, Clijsters H and Mench M** (1996). Copper toxicity in young maize (*Zea mays* L) plants: Effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and enzyme activities. *Plant and Soil*, 182, 287–300.

**Morgan J. J. and Stumm W**, Chemical process in the environnement, Edit Merian E, VCH, Weinheim, Germany, (1991) 67-103.

**Muller J** (1960) Échange des ions cuivriques sur les colloïdes minéraux. *Ann Agron*, 75-91.

**Nriagu , J. O.**, Copper in the environment. Part 1: Ecological cycling, John-Wiley and sons Inc., 1979a.

**OBATON et al**,1980 influence de déficit hydrique sur l'activité nitrate réductase et nitrogénase chez le soja (*Glycine max* L. Merr. Cv .Hodgson ) ,C . R. Acad .Sci. 249, p 1007-1012 .

**OFEFP**, 1996. Sols pollues-métaux lourds et plantes bioindicatrices. Documents Environnement n° 58, Sol, Berne, Suisse.

**OSMEN et al.,1986** –Seasonal pattern of symbiotic Nitrogen fixation in Faba beans and its Association with some physiological traits.Fabis News letters ,N °14 .

**Pahlsson A.B.** (1989). Toxicity of heavy metals (Zn,Cu, Cd, Pb) to vascular plants: A literature review. *Water Air and Soil Pollution*, 47, 287-319.

**Pich A and Scholz G** (1996) Translocation of copper and other micronutrients in tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill): Nicotianamine-stimulated copper transport in the xylem. *Journal of Experimental Botany* 47, 41–47.

**PICHARD, A.** Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques : Zinc et ses dérivés. INERIS. 14 mars 2005. [Page consultée le 06/05/2011]. 69p. Le document est disponible sur internet : < <http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/getDocument/2867> >.

**PITTER P.** Hydrochemie. Praha : VSCHT 3e édition, 1999, 568 p.

**PITTER P.** Hydrochemie. Praha : VSCHT 3e édition, 1999, 568 p..

## Références bibliographiques :

---

**Prasad K, Saradhi PP and Sharmila P** (1999). Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea*. *Environmental and experimental Botany*, 42:1-10.

**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.

**Quartacci, M. F., Irtelli, B., Gonnelli, C., Gabbrielli, R., et Navari-Izzo, F.** (2009). "Naturally assisted metal phytoextraction by *Brassica carinata*: Role of root exudates." *Environmental Pollution*, 157(10), 2697-2703.

**Quian Y.L, Willem S.J. and Marcum K.B** (2001) comparative responses of two Kentucky Bluegrass cultivars to salinity stress *crop science*, Vol 41 :1895-1900.

**R. prunet, D. Bourdin, D. Prevot.** Structure de la matière, Chimie inorganique. Sciences et technologies de laboratoire. Edition 1996.

**Radetski CM, Ferrari B, Cotellet S, Masfaraud JF, Ferard JF.** 2004. Evaluation of the genotoxic, mutagenic and oxidant stress potentials of municipal solid waste incinerator bottom ash leachates. *Sci. Total Environ.* 333(1-3):209-216.

**Rai V.K., Singh G., Thakur P.S. et Banyal S.** 1983- Protein and amino-acid relationship during water stress in relation to drought resistance. *Plant Physiol. Biochem.*, (Suppl.), 10: 161.

**Reichman SM.** 2002. The responses of Plants to Metal Toxicity: A review focusing on copper, Manganese and Zinc, The Australian Minerals & Energy Environment Foundation, Melbourne, 54 p.

**Reimann C & Garrett RG.** 2005. Geochemical background--concept and reality. *Science of the Total Environment* 350: 12-27.

**Rengel, Z.,** 1999. Heavy Metals as Essential Nutrients. In: Prasad, M.N.V. & Hagemayer, J. (Eds.). *Heavy metal stress in plants: From molecules to ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 231- 251.

**Riceman DS, Jones GB** (1958) Distribution of Zn and Cu in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L) grown in solution cultures supplied with graduated amounts of Zn. *Aust J Agric Res*, 9, 73-122.

**Richardson, G.M., Garrett, R., Mitchell, I., Mah-Poulson, M., Hackbarth, T.,** 2001. Critical review on natural global and regional emissions of six trace metals to the atmosphere. *Prep. Int. Lead Zinc Res. Organ. Int. Copp. Assoc. Nickel Prod. Environ. Res. Assoc.*

**ROBERT M. et JUSTE C.** 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, 1999.

## Références bibliographiques :

---

**Rout, G.R., Das, P.**, 2009. Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: I. Zinc, in: Sustainable Agriculture. Springer, pp. 873–884.

**Sadeghzadeh, B.**, 2013. A review of zinc nutrition and plant breeding. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 0–0. doi:10.4067/S0718-95162013005000072.

**Sahi, S. V., Israr, M., Srivastava, A. K., Gardea-Torresdey, J. L., et Parsons, J. G.** (2007). "Accumulation, speciation and cellular localization of copper in *Sesbania drummondii*." *Chemosphere*, 67(11), 2257-2266.

Salt response of chickpeas influenced by N supply , *Agron .J.* 73.p 961-966 .

**Sanders B. M Jenkins K. D; Sunda W. G and Costlow J. D**, Free cupric ion activity in sea water : effects on methallothionein and growth in crab larvae, *science*, N°.222 (1983) 53-55.

**Sang N, Li G.** 2004. Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba*. *Mutat. Res.-Genet. Toxicol. Environ. Mutag.* 560(2):159-165.

**Sarkar, B.** (1999). "Treatment of Wilson and Menkes diseases." *Chemical Reviews*, 99(9), 2535-2544.

**Schmid WE, Haag HP, Epstein E** (1965) Absorption of Zinc by excised barley roots. *Physiol Plant*, 18, 860-869.

**Schnitzer M., Skinner SIM** (1966) Organometallic interactions in soils: V. Stability constants of Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> fulvic acid. *Soil Sci*, 102, 361-366.

**Sharmila P. et Pardha Saradhi P.**, 2002- Proline accumulation in heavy metal stressed plants: An adaptative strategy. In: *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*. Prasad M.N.V. et Strzalka K. (Eds), 179-199.

**Sheldon A.R. and Menzies N.W.** (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.

**Shraddha, S., Sarita, S., Rohit, S., Kavita, P., Kavita, B.**, 2004- Translocation of metals and its effects in the tomato plants grow on various amendments of tannery waste: evidence for involvement of antioxidants. *Chemosphere*. 57: 91-99.

**SINGH et al.** ,1982 –Faba bean a high protein potential pulse crop Indian farming . *Fabis Newsletter* , 21 ,p26 .

**Singh T.N Paleg L.G and Aspirall D** , (1973) Nitrogen metabolism and growth in barley plants during water stress. *Aust J Biol-Sci*, 26pp 45-56.

**Smil, V.**, 2001 . Biofixation and nitrogen in the biosphere and in global food production. In: *Finan, T., O'Brian, M., Layzell, D., Vessay, K., Newton, W. (Eds.), Nitrogen fixation: Global Perspectives*. CAB International, UK, pp. 7–9.

## Références bibliographiques :

---

**Smolders E, Oorts K, Van Sprang P, Schoeters I, Janssen CR, McGrath SP & McLaughlin MJ.** 2009. Toxicity of trace metals in soil as affected by soil type and aging after contamination: Using calibrated bioavailability models to set ecological soil standards. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28: 1633-1642.

**SPOSITO G.** The chemistry of soil, New York : Oxford University Press Inc., 1989, 277 p.  
Springer

**Stalt J.P., Sneller E.C., Bryngelson T., Bryngelsson T., Lundborg T., Schat H.,** 2003- Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat. *Environnemental and Experimental Botany*, 49: 21- 28.

**Stengel P. et Gelin S.,** 1998 Sol interface fragile Ed. INRA- Paris. 213p.

**STEVENSON F.J.** Humus Chemistry – Genesis, composition, Reactions. 2nd edition .New York : John Wiley & sons, INC., 1994, 496 p.

**Tambasco G, Sauvé S, Cook N, McBride M & Hendershot W.** 2000. Phytoavailability of Cu and Zn to lettuce (*Lactuca sativa*) in contaminated urban soils. *Canadian Journal of Soil Science* 80: 309-317.

**Templeton DM, Ariese F, Cornelis R, Danielsson L-G, Herbert M, Van Leeuwen HP & Obinski R.** 2000. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of 147 elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches: (IUPAC recommendations 2000). *Pure and Applied Chemistry* 72: 1453-1470.

**Thomé O.W.** (1885). *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz* Gera, Germany.

**Tiffin LO** (1967) Translocation of manganese, Iron, Cobalt and Zinc in Tomato. *Plant Physiol*, 42, 1427-1432.

**Tiller KG and Merry RH** (1981) Copper pollution of agricultural soils. In: *Copper in soils and plants* Eds Loneragan JF, Robson AD and Graham RD, Academic Press, pp. 25–45

**Tsonev, T., Lidon, F.J.C.,** 2012. Zinc in plants-An overview. *Emir. J. Food Agric.* 24

**TU.J.C 1981 ; LAUTER,1981 ; SINGLETON,1983** Effect of salinity on Rhizobium–root-hair inter-action , nodulation and growth of soybean , *Can .J . plant sci* .61. p231-239 .

**Vallee, B. L. et Falchuk, K. H.** (1993). The biochemical basis of zinc physiology. *Physiological reviews*, 73(1):79–118.

**Van Goor BJ, Wiersma D** (1976) Chemical form of Manganese and Zinc in phloem exudates. *Physiol Plant*, 36, 213-219.

**Vijayarengan P. and Mahalakshmi G.** (2013). Zinc Toxicity in Tomato Plants. *World Applied Sciences Journal* 24 (5): 649-653.

## **Références bibliographiques :**

---

**Wainwright SJ and Woolhouse HW** (1977). Some physiological aspects of copper and zinc tolerance in *Agrostis tenuis* Sibth: Cell elongation and membrane damage. *Journal of Experimental Botany*, v.28, p.1029-1036.

**Wintz, H., Fox, T., Wu, Y.-Y., Feng, V., Chen, W., Chang, H.-S., Zhu, T., Vulpe, C.**, 2003. Expression profiles of *Arabidopsis thaliana* in mineral deficiencies reveal novel transporters involved in metal homeostasis. *J. Biol. Chem.* 278, 47644–47653.

**Zaghouane, O.** (1991). The situation of faba bean (*Vicia faba* L.) in Algeria. *Options Méditerranéennes. Série Séminaires*, 10: 123-125.

**Annexe :**

-Analyse de variance des paramètres étudiés :

**Cuivre :****RWC% :**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1621,395	15	108,093				
VAR.FACTEUR 1	1298,166	3	432,722	16,065	0,0002		
VAR.RESIDUELLE 1	323,229	12	26,936			5,19	8,18%

**La proline :**

Proline feuille

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	29387,49	15	1959,166				
VAR.FACTEUR 1	29140,72	3	9713,573	472,359	0		
VAR.RESIDUELLE 1	246,768	12	20,564			4,535	3,71%

Proline racine :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	9581,954	15	638,797				
VAR.FACTEUR 1	9458,879	3	3152,96	307,418	0		
VAR.RESIDUELLE 1	123,075	12	10,256			3,203	5,31%

**Longueur de racine :**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	554	15	36,933				
VAR.FACTEUR 1	404	3	134,667	10,773	0,0011		
VAR.RESIDUELLE 1	150	12	12,5			3,536	9,96%

**Zinc :****RWC% :**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2939,85	15	195,99				
VAR.FACTEUR 1	2485,46	3	828,487	21,88	0,00005		
VAR.RESIDUELLE 1	454,39	12	37,866			6,154	9,96%

**La proline :**

Proline feuille :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	22776,45	15	1518,43				
VAR.FACTEUR 1	22216,87	3	7405,624	158,812	0		
VAR.RESIDUELLE 1	559,578	12	46,632			6,829	5,63%

Proline racine :

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	8074,977	15	538,332				
VAR.FACTEUR 1	7769,076	3	2589,692	101,589	0		
VAR.RESIDUELLE 1	305,901	12	25,492			5,049	7,81%

**La longueur de racine :**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1209	15	80,6				
VAR.FACTEUR 1	1120,5	3	373,5	50,644	0		
VAR.RESIDUELLE 1	88,5	12	7,375			2,716	9,45%

## Résumé :

La pollution par les métaux lourds est devenue un véritable problème menaçant notre écosystème, avec des effets nuisible sur la production végétal et sur la biodiversité.

L'objectif de notre travail est d'étudier séparément l'influence du cuivre et du zinc sous forme des sulfates ( $\text{Cu So}_4$  et  $\text{Zn So}_4$ ) à des différentes doses de 100,300 et 500ppm de cuivre et 300, 500 et700ppm du zinc, sur le comportement biométrique, physiologique et biochimique de la fève (*Vicia faba L.*). L'application du cuivre et du zinc a été réalisée durant tout le cycle physiologique de la plante.

L'étude de l'effet des métaux lourds (cuivre et zinc) l'élongation des racines, a révélé qu'il exerce un ralentissement et une diminution de la croissance de cette dernière à des doses de 100,300 et 500 ppm pour le cuivre et 300,500 et 700 ppm pour le zinc ,L'élongation des racines est très sensible à l'augmentation de cuivre et diminue dans les doses 100, 300 et 500 ppm, cependant le zinc à la concentration 300 ppm stimule l'élaboration de la longueur des racines et au-delà de 500ppm il devient toxique. Concernant les paramètres physiques et chimiques, l'accumulation des deux métaux (cuivre et zinc) dans chacun des parties aérienne et racinaires de la plante augmente au fur et à mesure que leur grandeur augmente dans le substrat qui va provoquer une augmentation du taux de la proline et une diminution pour le paramètre physiologique tel que la teneur relative en eau.

**Les mots clés :** métaux lourds–stress-cuivre-zinc-*Vicia faba L.*-paramètre morphologique–paramètre biochimique.

**Abstract :**

Heavy metal pollution has become a real problem threatening our ecosystem, with adverse effects on crop production and biodiversity.

The aim of our work is to study separately the influence of copper and zinc in the form of sulphates (Cu So<sub>4</sub> and Zn So<sub>4</sub>) at different doses of 100,300 and 500ppm of copper and 300, 500 and 700ppm of zinc, on the biometric, physiological and biochemical behavior of the bean (*Vicia faba L.*). The application of copper and zinc was carried out during the entire physiological cycle of the plant.

The study of the effect of heavy metals (copper and zinc) the elongation of the roots, revealed that it exerts a slowdown and a decrease in the growth of the latter at doses of 100,300 and 500 ppm for copper and 300,500 and 700 ppm for zinc, the elongation of the roots is very sensitive to the increase of copper and decreases in the doses 100, 300 and 500 ppm, however the zinc with the concentration 300 ppm stimulates the elaboration of the length of the roots and beyond 500ppm it becomes toxic. Regarding the physical and chemical parameters, the accumulation of the two metals (copper and zinc) in each of the aerial and root parts of the plant increases as their size increases in the substrate which will cause an increase in the rate of proline and a decrease for the physiological parameter such as the relative water content.

**Key words:** heavy metals-stress-copper-zinc-*Vicia faba L.*-morphological parameter-biochemical parameter.

ملخص:

أصبح تلوث المعادن الثقيلة مشكلة حقيقية تهدد نظامنا البيئي ، مع تأثيرات ضارة على إنتاج المحاصيل والتنوع البيولوجي.

الهدف من عملنا هو دراسة تأثير النحاس والزنك بشكل منفصل على شكل كبريتات ( $Zn\ So_4$  و  $Cu\ So_4$ ) على جرعات مختلفة من 100،300 و 500 جزء في المليون من النحاس و 300 و 500 و 700 جزء في المليون من الزنك على خصائص البيومترية والفيزيولوجية والبيوكيميائية لنبات (*Vicia faba L*). تم إضافة النحاس والزنك خلال الدورة الفيزيولوجية للنبات.

أوضحت دراسة تأثير المعادن الثقيلة (النحاس والزنك) استتالة الجذور ، كما حدث تأخر وضعف نمو الأخير عند جرعات 100،300 و 500 جزء في المليون للنحاس و 300،500 و 700 جزء في المليون للزنك ، لأن استتالة الجذور حساسة للغاية لزيادة النحاس وانخفاض في الجرعات 100 و 300 و 500 جزء في المليون ، ومع ذلك فإن الزنك مع تركيز 300 جزء في المليون يحفز طول الجذور وما وراء 500 جزء في المليون يصبح ساما. فيما يتعلق بخصائص الفيزيائية والكيميائية ، يزداد تراكم المعدنين (النحاس والزنك) في كل من الأجزاء العلوية والجذرية للنبات مع زيادة حجمها في الطبقة التحتية مما يؤدي إلى زيادة معدل الحمض الأميني (برولين) وانخفاض خصائص الفيزيولوجية مثل المحتوى المائي النسبي.

**الكلمات المفتاحية:** معادن ثقيلة - إجهاد - نحاس - زنك - *Vicia faba L* - خصائص مورفولوجية - معامل كيمياء حيوي.