

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE  
**MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES**

Présenté par

**Derakaoui mansour**

**Koucem elaid**

**Benouaddane amira**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: Biodiversité et environnement**

**THÈME**

**Effet combiné de stress salin-métallique (cuivre, zinc) sur les  
paramètres morpho-physiologiques et biochimiques chez la fève  
(*Vicia faba* L.)**

Soutenue publiquement le 27/06/2018

DEVANT LE JURY

Présidente	M <sup>me</sup> . Mostari. A	Grade	MAA	U. Mostaganem
Examineurs	M. Nouri. T	Grade	MAA	U. Naama
Encadreur	M <sup>me</sup> . Belarbi. A	Grade	MCB	U. Mostaganem
Co-encadreur	M <sup>me</sup> . Bouker. H	Grade	Doctorante	U. Mostaganem

**Année universitaire : 2017-2018**



# Remerciement

*Avant tout on tient nos remerciements à notre dieu tout puissant de nous avoir donné la foi, la force et le courage.*

*A travers ce modeste travail, nous tenons à remercier vivement notre promoteur « Madame Belarbi » et co-encadreur « Madame Bouker. H » qui ont toujours été disponible malgré ses nombreuses occupations, et dont les encouragements et les conseils judicieux nous furent d'une très grande utilité.*

*Nos remerciements les plus vifs s'adressent aussi madame le président : « Madame mostari. A » et monsieur l'examinateur « M. Nouri. T » les membres de jury d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail*

*Nous exprimons également notre gratitude à tous les professeurs et enseignants qui ont collaboré à notre formation depuis notre premier cycle d'étude jusqu'à la fin de notre cycle universitaire.*

*Nous tenons à remercier les membres du laboratoire de biodiversité et environnement de université Mostaganem; et le secrétaire générale de faculté science de la nature et de la vie, ceux qui ont contribué de près ou loin à la réalisation du présent travail.*



*Mr. DERKAOUI MANSOUR  
Mr. KOUCEM Elaid  
M<sup>me</sup>. BENOUADDANE AMIRA*



# Dédicaces

*J'ai toujours pensé à faire ou offrir quelque chose à mes parents en signe de Reconnaissance pour tout ce qu'ils ont consenti comme efforts, rien que pour me voir réussir, et voilà, l'occasion est venue.*

*A ceux qui sont la source de mon inspiration et de mon courage, à qui je dois de l'amour et de la reconnaissance.*

- ☺ *A mes très chers parents.*
- ☺ *A mes très chers frères et sœurs : Mohammed, Adda, sadiq, mehdjouba , abdelkarim, kherofa*
- ☺ *A mon très cher défunt frère NOUREDDINE.*
- ☺ *A mes oncles: Tayeb, abdellah, fatima moumia ,aécha menouar zohra et leurs familles.*
- ☺ *A mes cousin : mohamed, aek, ahmed, yamina, djamila ; amine fatima zohra, saliha ; ibrahim, amaria, lakhdar, laid, mesta, fatima, houari , fouzia, halima, khadija, sadeq ; najat.*
- ☺ *A mes épouses mon frères :amina, nadjat, khayera*
- ☺ *A mes nièces, en particulier : Abdelilah, hadil , hadil , maroua*
- ☺ *A mon trinôme et se chère famille Benaoudane, Derkaoui.*
- ☺ *A mes amis, abdeka, mohamed, kamal, ahmed , abdeka, mehdi , tounsi, , aissa, L'aid,, aziz, et tous les Master de Promotion 2018sans exception*
- ☺ *A tous qui connue Elaid et je ne rappel pas.*

**Elaid**



# *Dédicaces*

*Avec l'aide d'allah le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail  
que je dédie:*

*A mes très chers parent pour toutes les privations et sacrifices consentis*

*A mes frères rachid, nedjmelddine.*

*A mes amis, amine, abdelkader, cherif et kamal et tous les Master de  
Promotion 2018sans exception.*

*A mes collègues et toutes qui ma accompagnée tout le long de la  
réalisation de ce travail.*

*Sans oublier à touts ceux qui j'aime.*

***mansour***



# Dédicaces

*Je dédie mon travaille à ma mère , qu'elle m'a encouragé à aller de l'avant et qu'elle m'a donnée tout son amour pour reprendre mes études .*

*A mon père qui nous a quitté voilà trois ans .*

*A mon mari qui m'a encouragé à reprendre mes études .*

*A mon frère belhachemi et ma sœur loubna , je leur souhaitant tout le succès et le bonheur .*

*A toute ma famille pour l'amour et le respect qu'ils m'ont toujours accordé .*

*AMIRA*

## Résumé

La pollution par métaux lourds les est devenue un véritable problème menaçant nos écosystèmes, avec des effets préjudiciables sur la production végétale et sur la biodiversité. Le travail entrepris s'enregistre dans la perspective d'étudier le comportement morpho-physiologique et biochimique d'une glycophyte *Vicia faba* L. en réponse à des apports excessifs de Cu et Zn et de NaCl dans le milieu de croissance

Dans ce cadre, nous avons mesuré le nombre de feuilles, longueur des tiges, racines et teneur en eau des feuilles et la teneur en sucres, proline, protéines et chlorophylle de la plante de la fève *Vicia faba* L. après traitement avec diverses concentrations de cuivre 100 ppm, 300 ppm, 500 ppm additionnées de chlorure de sodium 100 meq.l<sup>-1</sup> et 200 meq.l<sup>-1</sup>

Nous avons également réalisé la même étude en présence de concentrations de zinc 300 ppm, 500ppm, 700ppm au lieu de cuivre avec la présence de plants témoins irrigués avec de l'eau distillée et une solution nutritive pour la comparaison.

Les plants de la fève ont été soumis à des traitements pendant 15 jours puis déracinés à l'âge d'environ deux mois pour compléter les analyses mentionnées précédemment.

Les résultats et les analyses obtenus ont montré que les traitements morphologiques et physiologiques étaient affectés négativement par le cuivre ou le zinc avec du chlorure de sodium et que le rapport des effets augmentait avec l'augmentation des concentrations appliquées.

En ce qui concerne les paramètres biochimiques de la plante de de la fève sous le stress appliquée cuivr ou zinc additionnée, les paramètres évalués sont la teneur de proline et les sucres solubles Les résultats montrent une adaptation des plantes de *Vicia faba* L. traduite par une progression des teneurs en proline et en sucres solubles des plantes étudiées. En ce qui concerne les protéines et les pigments chlorophylliens, l'effet a été négatif à la suite des traitements que nous avons effectués, le rapport d'effet augmentant avec l'augmentation des concentrations appliquées.

**Mots clés :** *Vicia faba* L., cuivre, zinc, salinité, paramètres (morpho-physiologiques, biochimiques).

## ملخص

لان التلوث بالمعادن الثقيلة أصبح يهدد النظام الايكولوجي وله تأثير سلبي على الإنتاج الزراعي والتنوع البيولوجي فقد خصصنا هذا العمل من اجل معرفة تأثير المعادن النحاس والزنك بتركيز مختلفة في وجود أيضا تراكيز مختلفه من كلور الصوديوم على الخصائص المورفو فيزيواوجية والبيوكيميائية لنبات الفول .

في هذا السياق قمنا بقياس عدد الأوراق وطول السيقان والجذور والمحتوى المائي للأوراق وقياس تحاليل محتوى السكريات والبرولين والبروتين والكلوروفيل لنبات الفول بعد معالجته بتركيز مختلفة للنحاس (500.300.100) جزء من المليون في وجود كلور الصوديوم بتركيز (200.100) ميلي مكافئ/لتر. كما قمنا أيضا بنفس الدراسة في وجود الزنك بتركيز (700.500.300) جزء من المليون بدلا من النحاس مع وجود نباتات شاهدة للفول تم سقيها بالماء المقطر والمحلول المغذي من أجل المقارنة.

النباتات الفول قد أخضعت للعلاجات لمدة 15 يوم ثم اقتلعت عن عمر يناهز شهرين لإكمال التحاليل المذكورة سابقا.

أظهرت النتائج والتحليل المتحصل عليها أن الخصائص المرفولوجية والفيزيولوجية قد تأثرت سلبا نتيجة المعالجات التي قمنا بها سواء بوجود النحاس أو الزنك مع كلور الصوديوم وان نسبة التأثير تزداد مع زيادة التراكيز المطبقة :

أما بالنسبة للخصائص البيوكيميائية استجابة نبات الفول لزيادة تراكيز كل من النحاس والزنك وكلور الصوديوم وذلك بتزايد كمية البرولين والسكريات المنحلة في الجذور والأوراق . أما فيما يخص البروتين والصبغات اليخضورية كان تأثير سلبي نتيجة المعالجات التي قمنا بها .وان نسبة التأثير تزداد بزيادة التراكيز المطبقة.

**الكلمات المفتاحية:** النحاس . الزنك .الملوحة .نبات الفول .الخصائص المرفولوجية والفيزيولوجية والبيوكيميائية

## Liste des figures

Figure 01: Localisation (spéciation) des éléments en traces métalliques (ETM) dans le sol.....	10
Figure 02: Evaluation des productions (qx) de la fève par rapport aux autres légumineuses alimentaires en Algérie de 2002 à 2012.....	41
Figure 03: Apport calorifique de 100 g de la fève verte d' <i>Aguadulce</i> .....	43
Figure 04 : Organigramme montrant le protocole expérimental adopté de la culture <i>Vicia faba</i> L.....	54
Figure 05: Effet combiné de la salinité et du cuivre sur la hauteur de tige chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	55
Figure 06 : Effet combiné de la salinité et du cuivre sur le nombre des feuilles chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	56
Figure 07: Effet combiné de la salinité et du cuivre sur la longueur racinaire chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	57
Figure 08 : Effet combiné de la salinité et du cuivre sur la teneur relative en eau chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	59
Figure 09: Effet combiné de la salinité et de cuivre sur la chlorophylle (A, B et A+B) et les caroténoïdes chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	61
Figure 10 : Effet combiné de la salinité et du cuivre sur les sucres solubles chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	63
Figure 11: Effet combiné de la salinité et du cuivre sur la teneur en proline chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	65
Figure 12: Effet combiné de la salinité et du cuivre sur la protéine chez la fève <i>Vicia faba</i> L....	68
Figure 13: Effet combiné de la salinité et du zinc sur la hauteur des tiges chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	70
Figure 14: Effet combiné de la salinité et le zinc sur nombres des feuilles chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	71
Figure 15: Effet combiné de la salinité et du zinc sur la longueur racinaire chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	72
Figure 16: Effet combiné de la salinité et du zinc sur la teneur relative en eau (RWC) chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	74
Figure 17: Effet combiné de la salinité et le zinc sur la chlorophylle (A, B, A+B) et les caroténoïdes chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	76

Figure 18: Effet combiné de la salinité et du zinc sur la teneur en sucres solubles chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	78
Figure 19: Effet combiné de la salinité et du zinc sur la proline chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	80
Figure 10: Effet combiné de la salinité et le zinc sur la protéine chez la fève <i>Vicia faba</i> L.....	82

## Liste des tableaux

Tableau 01: Rapport du flux lié à l'activité humaine et le flux naturel des métaux lourds.....	04
Tableau 02 : Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement.....	05
Tableau 03 : Teneurs naturelles de quelques éléments traces dans les sols et apports anthropiques (En mg/kg).....	07
Tableau 04: Affinités ETMs-Phases porteuses: par ETM.....	11
Tableau 05: Effets du pH sur la mobilité des micropolluants métalliques des sols et des sédiments.....	12
Tableau 06: Classification de quelques métaux lourds selon leur densité et leur toxicité.....	14
Tableau 07 : Principaux effets des métaux lourds.....	16
Tableau 08 : Propriétés physicochimiques du cuivre.....	17
Tableau 09: Propriétés physicochimiques du zinc.....	20
Tableau 10: évaluation de la superficie et production de la fève et féverole en Algérie.....	42
Tableau 11: Coordonnées géographiques du site de la serre expérimentale.....	44
Tableau 12: Composition de la solution nutritive Hoagland et Arnon (1938).....	49
Tableau 13 : Résultats moyens de la longueur racinaire de <i>Vicia faba</i> L. en fonction des doses de cuivre et de chlorure de sodium.....	57
Tableau 13 : Résultats moyens de la Teneur relative en eau (RWC) de <i>Vicia faba</i> L. en fonction des doses de cuivre et de chlorure de sodium.....	60
Tableau 15: Résultats moyens du taux de la proline chez <i>Vicia faba</i> L. en fonction des doses de cuivre et de chlorure de sodium.....	64
Tableau 16: Résultats moyens du taux de proline chez <i>Vicia faba</i> L. en fonction des doses de cuivre et de chlorure de sodium.....	66
Tableau 17: Résultats moyens du taux de proline chez <i>Vicia faba</i> L. en fonction des doses de cuivre et de chlorure de sodium.....	69
Tableau 18: Résultats moyens de la longueur racinaire de <i>Vicia faba</i> L. en fonction des doses de zinc et de chlorure de sodium.....	73
Tableau 19: Résultats moyens de la Teneur relative en eau (RWC) chez <i>Vicia faba</i> L. en fonction des doses de zinc et de chlorure de sodium.....	75
Tableau 20: Résultats moyens de la chlorophylle et de caroténoïde chez <i>Vicia faba</i> . L. en fonction des doses de zinc et de chlorure de sodium.....	77
Tableau 21 : Résultats moyens de la teneur en sucres solubles chez <i>Vicia faba</i> . L en fonction des doses de zinc et de chlorure de sodium.....	79

Tableau 22: Résultats moyens de la teneur en proline chez <i>Vicia faba</i> L. en fonction des doses de zinc et de chlorure de sodium.....	81
Tableau 23: Résultats moyens de la teneur en protéine chez <i>Vicia faba</i> L. en fonction des doses de zinc et de chlorure de sodium.....	83

## Liste des photos

Photo 01 : Les différentes parties de la fève <i>Vicia faba</i> L. ....	38
Photo 02: Site expérimental (novembre 2018).....	45
Photo 03: Les graines <i>Vicia faba</i> L.....	46
Photo 04: Plantule de <i>Vicia faba</i> L. cultivées en alvéole.....	47
Photo 05 : Dispositif expérimental sous serre après le repiquage (28 Novembre 2018).....	48
Photo 06: Plantes de <i>Vicia faba</i> L. cultivées en pots (décembre 2018).....	50

# Sommaire

## Partie I: Partie bibliographie

<b>Introduction générale</b> .....	01
<b>Chapitre I : Métaux lourds</b>	
Introduction.....	03
I.1 Définition des métaux lourds .....	03
I.2 Origines Naturelles et humaines des métaux lourds dans l'environnement.....	03
I.2.1 Sources naturelles.....	04
I.2.2 Sources anthropiques.....	04
I.3 Répartition et devenir des métaux lourds dans l'environnement.....	05
I.3.1. Contamination des sols.....	05
I.3.1.1 Processus de transfert.....	06
I.3.1.2 Répartition des métaux lourds dans les sols.....	06
I. 3.2 Contamination de l'air.....	07
I. 3.3 Contamination de l'eau.....	08
I.4 Spéciation des métaux traces dans les solutions du sol.....	08
I.5 Phénomène d'adsorption des éléments métalliques dans les sols.....	10
I.5.1- Physisorption (Adsorption non spécifique).....	10
I.5.2- Chimisorption (Adsorption spécifique).....	11
I.6- Facteurs modifiant la mobilité des métaux lourds.....	11
I. 6.1- Potentiel hydrogène (pH).....	11
I.6.2- Potentiel redox (Eh).....	12
I.6.3- Activité biologique.....	12
I.6.3.1 Solubilisation.....	12
I.6.3.2 Insolubilisation.....	13
I.6.3.3 Volatilisation.....	13
I.6.4- Température.....	13
I.7- Toxicité des métaux lourds.....	13
I.7.1 Impact toxicologique.....	14
I.7.1.1 Exposition.....	14

I.7.2 Effets sur la santé.....	14
7.3 Effet sur les végétaux.....	16
I.8 - Caractéristiques Cuivre et Zinc.....	16
I.8.1- Cuivre.....	16
I.8.1.1 - Cuivre dans le sol.....	17
I.8.1.2 -Différentes formes d'un même élément.....	17
I.8.1.3 Mobilité de cuivre chez les plantes.....	18
I.8.1.4 - Causes de déficience en cuivre.....	18
I.8.1.5 - Correction de la déficience en cuivre.....	18
I.8.1.6 -Excès du cuivre.....	18
I.8.1.7 Symptômes de carences en cuivre.....	18
I.8.1.8 Rôles du Cu chez les végétaux.....	19
I.8.1.9 Effet de cuivre chez L'Homme.....	19
I.8.2 – Zinc.....	20
I.8.2.1- Zinc dans le sol.....	20
I.8.2.2- Solubilité du Zinc.....	20
I.8.2.3 - Mobilité du Zinc chez les plantes.....	21
I.8.2.4 - Causes de déficience.....	21
I.8.2.5 - Symptômes de déficience en zinc.....	22
I.8.2.6 - Excès de zinc.....	22
I.8.2.7 - Plantes sensibles et symptômes de carences en zinc.....	22
I.8.2.8 Rôle du zinc.....	22
I.8.2.9 Effet de zinc chez l'Homme.....	23

## **Chapitre II : Généralité sur la salinité**

II.1. Données sur le stress.....	24
II.1.1-Définition du stress.....	24
II.1.2- Types de stress.....	24
II.1.2.1. Stress biotique.....	24
II.1.2.2. Stress abiotique.....	24
II.1- Stress hydrique.....	24
II. 2- Stress thermique.....	25
II. 3- Stress salin.....	25
II.2- Définition de la salinité.....	25

II.2.1- Types de salinité.....	25
II.2.1.1- Salinisation primaire.....	25
II. 2.1.2- Salinisation secondaire.....	26
II.3- Salinité et la plante.....	26
II.3.1. Composantes de la salinité.....	26
II.3.1.1. Le stress osmotique.....	26
II.3.1.2. Stress ionique.....	26
II.3.1.3. Stress nutritionnel.....	27
II.3.1.4. Stress oxydatif.....	27
II.4- Impact de la salinité sur les plan.....	28
II.4.1. Effets de salinité sur la germination.....	28
II.4.2. Effet de la salinité sur la physiologie de la plante.....	28
II.4.2.1. Effet de salinité sur la réduction générale de la croissance.....	28
II.4.2.2. Effets de salinité sur la photosynthèse.....	29
II.4.2.3. Effet de salinité sur le métabolisme azote.....	29
II.4.3. Effet de la salinité sur la morphologie de la plante.....	29
II.4.3.1. Effets de salinité sur les feuilles.....	29
II. 4.3.2. Effets de salinité sur les racines.....	29
II. 4.4. Effet de la salinité sur le rendement agronomique.....	30
II.5. Réponse et la stratégie adaptative de la plante aux stress salin.....	30
II.5.1. Exclusion.....	31
II.5.2. Inclusion (Compartimentation).....	31
II.5.3. Ajustement osmotique.....	31
II.5.3.1. Accumulation de la proline.....	31
II.5.3.2. Accumulation des sucres solubles.....	32
II.6. Régulation de la croissance.....	32
II.7. Contrôle membranaire.....	32

### **Chapitre III : Généralité sur *Vicia faba* L.**

Introduction.....	34
III.1- Origine et répartition géographique.....	34
III.2- Classification botanique.....	34
III.3- Caractéristique morphologique de la fève.....	35
III.3.1- Racines.....	35

III.3.2- Tige.....	35
III.3.3- Feuilles.....	35
III.3.4- Fleurs.....	35
III.3.5- Fruits.....	36
III.3.6- Graines.....	36
III.4- Cycle biologique.....	37
III.5- Différentes variétés de la fève ( <i>V. faba</i> ) présentes en Algérie.....	37
III.5.1- Séville.....	37
III.5.2- Aguadulce.....	38
III.5.3- Muchaniel.....	38
III.5.4- Sidi Moussa.....	38
III.5.5- Féverole.....	38
III.6- Exigences de la culture de fève.....	38
III.6.1- Exigences pédologiques.....	38
III.6.1.1- Eau.....	38
III.6.1.2- Sol.....	38
III.6.2- Exigences climatiques.....	39
III.6.2.1- Température.....	39
III.6.2.2- Lumière.....	39
III.6.3. Exigences agronomiques.....	39
III.6.3.1- Préparation du sol.....	39
III.6.3.2- Semis.....	39
III.7- Intérêts de la fève.....	39
III.7.1- Intérêts agronomique.....	40
III.7.2- Intérêts économiques.....	40
III.7.3- Intérêt écotoxicologique.....	41
III.7.4- Intérêt alimentaire.....	42

## **Partie II: Matériel et méthode**

1.Objectif de l'étude.....	44
2.Lieu de l'expérimentation.....	44
3.Choix de l'espèce végétale.....	45
4.Méthode.....	46

4.1-Préparation des graines.....	46
4.2- Préparation du substrat de culture .....	46
4.3- Préparation des pots.....	47
4. 4- semis .....	47
4.5-Repiquage.....	47
4.6- Arrosage.....	49
4.7.Application du stress Salin-métallique .....	49
4.8.Prélèvement des échantillons.....	51
5.Paramètres mesurés.....	51
5.1-Paramètres biométriques ;;.....	51
5.1. a- Nombre des feuilles.....	51
5.1.b- Hauteur de tige (HT).....	51
5.1. c-Longueur racinaire (LR).....	51
5.2 Paramètres physiologique.....	51
5.2.1. Teneur relative en eau (RWC).....	51
5.3. Paramètres biochimiques.....	52
5.3.1.Proline (PRLN).....	52
5.3.2. Sucres solubles (SS) .....	52
5.3.3.Concentration en pigment.....	52
5.3.4.Taux de protéines totales.....	53
6. Analyses statistiques.....	53

### **Partie III : Résultats et discussion**

1.Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl+ CuSO <sub>4</sub> ).....	55
1.1.Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl+ CuSO <sub>4</sub> ) sur les paramètres morphologiques.....	55
1.1.1. Longueur des tiges.....	55
1.1.2. nombres des feuilles.....	56

1.1.3. Longueur racinaire.....	57
1.2. Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl+ CuSO <sub>4</sub> ) sur paramètre physiologique.....	59
1.2.1. Teneur relative en eau (RWC).....	59
1.3. Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl+ CuSO <sub>4</sub> ) sur les paramètres biochimiques.....	61
1.3.1. Pigments chlorophyllienne.....	61
1.3.2. Sucre soluble.....	63
1.3.3. Proline.....	65
1.3.4. Protéine.....	68
2. Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl+ZnSO <sub>4</sub> ).....	70
2.1- Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl+ ZnSO <sub>4</sub> ) sur les paramètres morphologiques.....	70
2.1.1. Hauteur des tiges.....	70
2.1.2- Nombre des feuilles.....	71
2.1.3. Longueur racinaire.....	72
2.2-.Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl+ ZnSO <sub>4</sub> ) sur paramètre physiologique.....	74
2.2.1. Teneur relative en eau (RWC).....	74
2.3. Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl+ ZnSO <sub>4</sub> ) sur les paramètres biochimiques.....	75
2.3.1. Pigments chlorophyllienne.....	75
2.3.2. Sucre soluble.....	77
2.3.3. Proline.....	79

2.3.4. Protéine.....	81
<b>Conclusion.....</b>	<b>84</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## Liste des Abréviations

**O** : Oxygène

**Si** : Silicium

**Al** : Aluminium

**Fe**: Fer

**C**: Calcium

**Na**: Sodium

**K** : Potassium

**Mg** : Magnésium

**Ti** : Titane

**P** : Phosphore

**Mn** : Manganèse

**MS** : matière sèche

**Ni** : nickel

**Pb**: plomb

**ETM** : éléments traces métalliques ;

**CEC** : capacité d'échange cationique

**Eh** : potentiel d'oxydo-réduction.

**Ppm**: parties par million (mg/kg) ;

**INRA** : institut national de la recherche agronomique

**FAO** : Food and Agriculture Organization of the United Nations.

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE  
**MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES**

Présenté par

**Derakaoui mansour**

**Koucem elaid**

**Benouaddane amira**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: Biodiversité et environnement**

THÈME

**Effet combiné de stress salin-métallique (cuivre, zinc) sur les  
paramètres morpho-physiologiques et biochimiques chez la fève  
(*Vicia faba* L.)**

Soutenue publiquement le 27/06/2018

DEVANT LE JURY

Présidente	M <sup>me</sup> . Mostari. A	Grade	MAA	U. Mostaganem
Examineurs	M. Nouri. T	Grade	MAA	U. Naama
Encadreur	M <sup>me</sup> . Belarbi. A	Grade	MCB	U. Mostaganem
Co-encadreur	M <sup>me</sup> . Bouker. H	Grade	Doctorante	U. Mostaganem

Année universitaire : 2017-2018

# **Introduction**

# Introduction

---

## Introduction générale

La pollution de l'environnement et des sols est devenue actuellement un problème préoccupant. En effet les substances polluantes présentes dans le sol sont extrêmement nombreuses. Parmi les plus répandues figurent : les hydrocarbures, les pesticides, les matières plastiques, l'amiante et les métaux lourds (**Adriano, 2001; Alkorta et al., 2004**).

Les métaux lourds font partie des principaux polluants inorganiques du sol. Ils sont continuellement rajoutés dans les sols par diverses activités. Par exemple, en agriculture par les boues d'épuration, en industrie par les activités métallurgiques,... Si certains éléments métalliques (oligo-éléments), présents à l'état de traces, tels que le zinc (Zn), le cuivre (Cu), le fer (Fe), le Manganèse (Mn)..., sont essentiels pour l'organisme, l'accroissement de leur concentration les rend toxiques et dangereux pour les êtres vivants. D'autres éléments ne sont pas nécessaires et ne peuvent avoir que des effets toxiques. A cette catégorie appartiennent différents éléments, tels que le plomb (Pb), le mercure (Hg), le cadmium (Cd) (**Vamerali et al., 2010**)

N'étant pas dégradables dans le sol, les métaux lourds persistent dans l'environnement pendant de longues périodes. Les plantes sont directement exposées à ces éléments dont le potentiel toxique est indéniable et passe à l'homme à travers la chaîne alimentaire (**Sharma et Dietz, 2009**).

A ce contaminant, s'ajoute le facteur salinité, une contrainte écologique pour les sols dans le monde entier, particulièrement le bassin méditerranéen. En Afrique du nord, ce phénomène est considéré comme un facteur abiotique le plus important qui limite la croissance et la productivité des plantes (**Khan et Panda, 2008**). Cette salinité résulte de forte évaporation d'eau à partir du sol (**Munns et al., 2006**) et d'une irrégulière et insuffisante pluviométrie (**Mezni et al., 2002**). Ce facteur provient aussi de l'irrigation le plus souvent mal contrôlée (**Bennaceur et al., 2001**).

Chaque année, les surfaces perdues à cause de la salinité des sols varient autour de 20 millions d'ha dans le monde. Ainsi, ces surfaces sont passées de 48 millions à 265 millions d'ha de terres agricoles touchées par la salinité et aujourd'hui, les surfaces agricoles affectées dans le monde seraient de 340 millions d'ha soit 23% des terres cultivées dans le monde (**Cheverry, 1995**). L'Algérie se situe parmi les pays touchés, presque 3,2 millions d'hectares de la surface sont salins (**Hamdy, 1999**).

## Introduction

---

Dans beaucoup de cas, les stress abiotiques ne se produisent pas indépendamment, et donc les stress environnementaux peuvent impliquer ainsi un complexe d'interaction de facteurs de stress. (**Amane et al., 1999**)

L'effet négatif de la forte salinité peut être observé au niveau de toute la plante comme la mort de la plante et / ou la diminution de la productivité. Beaucoup de plantes développent des mécanismes soit pour exclure le sel de leurs cellules ou pour tolérer sa présence dans les cellules. (**Parida et Das, 2005**)

En Algérie, la fève reste la plus importante culture vivrière, couvrant une surface de 58000 hectares avec un rendement total de 254000 tonnes (**Laamari et al., 2008**). La fève occupe la première place parmi les légumineuses en Algérie en raison de sa valeur nutritionnelle élevée et de ses divers usages. Elle est principalement cultivée dans les plaines et les régions sublittorales ; et a un rôle important dans l'économie nationale et dans la production agricole (**Aouar-Sadli et al., 2008**).

La fève est une bonne source de protéine et d'énergie, elle joue un rôle dans la rotation des cultures, la fixation d'azote atmosphérique et dans la fertilité des sols. Elle est dans le régime alimentaire des humains comme des animaux (**Wang et al., 2012**).

Cependant, la culture de la fève est sujette à une série de contraintes d'ordre abiotique (sécheresse, gelée), biotique (les insectes ravageurs, les maladies et les plantes adventices) (**Hamadache et al., 1996**).

Dans ce cadre s'inscrit notre travail qui vise à évaluer l'impact de l'interaction de la salinité avec des métaux lourds le cas du cuivre et du zinc sur les différents paramètres morpho physiologiques, biochimiques chez la fève *Vicia faba* L.

Le mémoire proposé s'articule autour des trois parties. Dans la première partie, nous proposons de présenter une synthèse bibliographique que nous avons réalisé, relative au 1<sup>ère</sup> chapitre, regroupe présentation généralité sur les métaux lourds, le 2<sup>ème</sup> chapitre regroupe généralité sur la salinité, et enfin le 3<sup>ème</sup> chapitre regroupe généralité sur la fève.

Au cours de la deuxième partie, sont présentés les matériels et méthodes utilisés pour la réalisation de cette étude.

Enfin, la troisième partie et la dernière sera consacrée à la présentation des résultats obtenus et leurs discussion et une conclusion générale.

# **Chapitre I**

## **Métaux lourds**

## Introduction

Les éléments métalliques sont sous différentes formes, toujours présents au sein de l'environnement. A l'état de traces, ils sont nécessaires voire indispensables aux êtres vivants (Mohan *et al.*, 2006). A concentration élevée, en revanche, ils présentent une toxicité plus ou moins forte (Mohan et Singh, 2002). La présence de métaux lourds dans l'environnement résulte de causes naturelles et des activités humaines. Elle pose un problème particulier, car les métaux lourds ne sont pas biodégradables (Naseem et Tahir, 2001).

Les métaux lourds ne présentent pas tous les mêmes risques en raison de leurs effets sur les organismes, leurs propriétés chimiques, physico-chimiques et biologiques. Leur toxicité est très variable et leur impact sur l'environnement est très différent (Reddad *et al.*, 2002).

### I-1 Définition des métaux lourds

Dans la croûte terrestre, douze éléments l'oxygène (O), le silicium (Si), l'aluminium (Al), le fer (Fe), le calcium (Ca), le sodium (Na), le potassium (K), le magnésium (Mg), le titane (Ti), l'hydrogène (H), le phosphore (P) et le manganèse (Mn), constituent plus de 99% en poids du total de l'ensemble des éléments et sont présents à des teneurs moyennes supérieures ou égales à 1g/kg. Les autres éléments (68 éléments minéraux), dont les teneurs sont inférieures à 1g/kg, sont désignés sous le terme d'éléments traces métalliques (ETM) (Pearson, 1963).

Un métal lourd possède, entre autres des caractéristiques, celle de présenter une densité supérieure à 5 g/cm<sup>3</sup>. Les métaux lourds que l'on retrouve le plus souvent dans le sol sont: le cadmium, le manganèse, le cobalt, le chrome, le cuivre, le plomb, le mercure, le nickel et le zinc. L'arsenic est métalloïde lourd, peut également être associé à cette catégorie (Nieboer et Richards, 1980).

### I.2 Origines Naturelles et humaines des métaux lourds dans l'environnement

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) (Anonyme a, 1998).

### I.2.1 Sources naturelles

Parmi les importantes sources naturelles, citons l'activité volcanique, l'altération des continents et les incendies de forêts. La contribution des volcans peut se présenter sous forme d'émissions volumineuses dues à une activité explosive, ou d'émissions continues de faible volume, résultant notamment de l'activité géothermique et du dégazage du magma. (Darmendrail *et al.*, 2000). Le **tableau 01** montre le rapport entre le flux lié à l'activité humaine et le flux naturel.

**Tableau 01** : Rapport du flux lié à l'activité humaine et le flux naturel des métaux lourds (Miquel, 2001).

Elément	Flux lié à l'Homme / Flux naturel (%)
Cadmium	1, 897
Mercuré	27, 500
Chrome	1,610
Arsenic	2, 786
Plomb	34, 583

### I.2.2 Sources anthropiques

Les métaux provenant d'apports anthropiques sont présents sous des formes chimiques assez réactives et entraînent de ce fait des risques très supérieurs aux métaux d'origine naturelle qui sont le plus souvent immobilisés sous des formes relativement inertes (Mckenzie, 1997). Les sources anthropogènes sont les suivantes:

- Activités pétrochimiques ;
- Utilisation de combustibles fossiles (centrales électriques au charbon, chaudières industrielles, fours à ciment) ;
- Transport (véhicules et moteurs routiers et non routiers, embarcations)
- Incinération de déchets ;
- Produits (interrupteurs électriques, amalgames dentaires, éclairages fluorescents) ;
- Déchets urbains (eaux usées, boues d'épuration, ordures ménagères) et agricoles.

Le **tableau 02** présente quelques exemples de sources industrielles et agricoles d'où peuvent provenir les métaux présents dans l'environnement.

**Tableau 02** : Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement  
(Brignon *et al.*, 2005).

Utilisations	Métaux
Batteries et autres appareils électriques	Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Ni
Pigments et peintures	Ti, Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Sn, Cr, Al, As, Cu, Fe
Alliages et soudures	Cd, As, Pb, Zn, Mn, Sn, Ni, Cu
Biocides (pesticides, herbicides)	As, Hg, Pb, Cu, Sn, Zn, Mn
Agents de catalyse	Ni, Hg, Pb, Cu, Sn
Verre	As, Sn, Mn
Engrais	Cd, Hg, Pb, Al, As, Cr, Cu, Mn, Ni, Zn
Matières plastiques	Cd, Sn, Pb
Produits dentaires et cosmétiques	Sn, Hg
Textiles	Cr, Fe, Al
Raffineries	Ni, V, Pb, Fe, Mn, Zn
Carburants	Ni, Hg, Cu, Fe, Mn, Pb, Cd

### I.3 Répartition et devenir des métaux lourds dans l'environnement

#### I.3.1. Contamination des sols

Tous les sols contiennent naturellement des éléments traces métalliques ; On parle de contamination d'un sol lorsque sa teneur en élément trace est supérieure à la concentration naturelle, mais sans influence sur la qualité du sol.

La concentration naturelle de l'élément trace dans le sol résulte de son évolution à partir de la roche initiale. On parle de pollution des sols par un élément trace lorsque l'élément trace est présent à une dose constituant une menace pour l'activité biologique ou les fonctions du sol (Schuhmacher *et al.*, 1995). Les contaminations diffuses, qui affectent les niveaux superficiels des sols, résultent de phénomènes naturels tels que les retombées atmosphériques d'aérosols d'origine volcanique, ou d'actions anthropiques intentionnelles ou non : poussières et dépôts atmosphériques, fertilisants minéraux (cuivre contenu dans les phosphates), pesticides, lisiers et fumiers, boues de stations d'épuration, activités minières, déchets industriels (bâtiments) ou urbains, transports, etc.

### I.3.1.1 processus de transfert

Les précipitations et l'irrigation sont les principales sources d'eau des sols. Une partie est évacuée par évaporation ou ruissellement de surface. Une partie pénètre dans le sol et se dirige alors soit vers les racines des plantes, soit, par gravité, vers les horizons profonds et les nappes phréatiques. Au cours de ces transports, l'eau se charge en éléments en traces dissous (Marcos, 2001).

### I.3.1.2 Répartition des métaux lourds dans les sols (Citeau, 2004)

L'étude de la répartition d'un élément trace métallique entre les composants solides s'appelle la spéciation appréhendée par une technique qui porte le nom «d'extraction séquentielle ».

La variable déterminante de cette répartition est le degré de solubilité du métal.

- ✓ Si le métal est soluble, il va passer dans les nappes ou dans la plante ;
- ✓ S'il est insoluble, il va rester dans le sol.

La solubilité va dépendre de plusieurs facteurs, le plus important est l'acidité du sol.

- ✚ Un sol acide facilite la mobilisation. Les métaux lourds ne s'accumulent pas. Ils sont transférés vers les nappes phréatiques et les fleuves ou absorbés par les plantes et présentent alors un risque pour la santé.
- ✚ Un sol calcaire contribue à l'immobilisation de certains métaux (certains éléments réagissent différemment, notamment l'arsenic, plus mobile dans un sol calcaire).

Il n'y a donc pas de risque immédiat pour la santé. Mais le sol est contaminé durablement et la concentration en métaux lourds augmente avec les années. Ces derniers sont susceptibles d'être relargués quand l'environnement est modifié. Au niveau des sols, les risques sont divers (transfert vers les nappes phréatiques, biodisponibilité, écotoxicité), et dépendent principalement de la spéciation (degré d'oxydation, mode de complexation avec les macromolécules organiques et les constituants minéraux du sol).

**Tableau 03** : Teneurs naturelles de quelques éléments traces dans les sols et apports anthropiques (En mg/kg) (**Baize, 1997**).

	Teneurs naturelles en éléments traces dans les sols		Apports anthropiques
	Concentration moyenne dans la croûte terrestre	Valeurs extrêmes relevées dans les roches	Nature des apports anthropiques
Cadmium (Cd)	0.2	46	2 - 4 - 5
Cobalt (Co)	23	100 - 200	3 - 2
Chrome (Cr)	100 – 200	1 500 - 3 000	1 - 2
Cuivre (Cu)	45 – 70	80 - 150	3 - 4 - 5
Nickel (Ni)	80	2 000	3
Plomb (Pb)	13 – 16	30	1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6
Zinc (Zn)	70 – 132	120	3 - 4 - 5 - 6

La nature des apports anthropiques sont :

- 1- Retombées atmosphériques ;
- 2- Epandages boues de station d'épuration ;
- 3- Activités industrielles ;
- 4- Activités urbaines et trafic routier ;
- 5- Activités agricoles ;
- 6- Activités minières.

### I.3.2 Contamination de l'air

D'après **Veeresh (2003)**, les métaux lourds se dispersent dans les hautes couches de l'atmosphère et retombent ailleurs, après un transport sur de très longues distances. On estime qu'une particule de mercure dans l'atmosphère reste un an dans celui-ci, avant de retomber.

Les métaux lourds dans l'air peuvent se trouver principalement sous deux formes :

- Soit sous forme gazeuse pour certains composés métalliques volatiles ou dont la pression de vapeur saturante est élevée ;
- Soit sous forme de composés métalliques solides, déposés sur les très fines particules ou poussières formées lors des phénomènes de combustion.

Les principales sources de métaux dans l'air sont des sources fixes. Les métaux lourds sont transportés par des particules atmosphériques provenant de combustions à haute température, de fusions métallurgiques, véhicules.

Les effets biologiques, physiques et chimiques de ces particules sont fonction de la taille des particules, de leur concentration et de leur composition, le paramètre le plus effectif sur l'environnement étant la taille de ces particules.

Dans l'air ambiant, on trouve de nombreux éléments, comme le plomb, le cadmium, le zinc, le cuivre, etc., dont la concentration est d'autant plus élevée que les particules sont fines.

### **I.3.3 Contamination de l'eau**

Les métaux présents dans l'eau peuvent exister sous forme de complexes, de particules ou en solutions.

Les principaux processus qui gouvernent la distribution et la répartition des métaux lourds sont la dilution, la dispersion, la sédimentation et l'adsorption/désorption. Certains processus chimiques peuvent néanmoins intervenir également. C'est ainsi que la spéciation selon les diverses formes solubles est régie par les constantes d'instabilité des différents complexes, et par les propriétés physico-chimiques de l'eau (pH, ions dissous, et température) (**Gaujous, 1993**).

Les métaux lourds subissent de nombreuses transformations: réduction par processus biochimique, méthylation, déméthylation et oxydation d'espèces de métaux isolées.

Des réactions redox peuvent aussi faciliter certaines transformations. Les processus biochimiques sont effectués par des micro-organismes et par des algues.

Les principales sources de contamination de l'eau sont les suivantes :

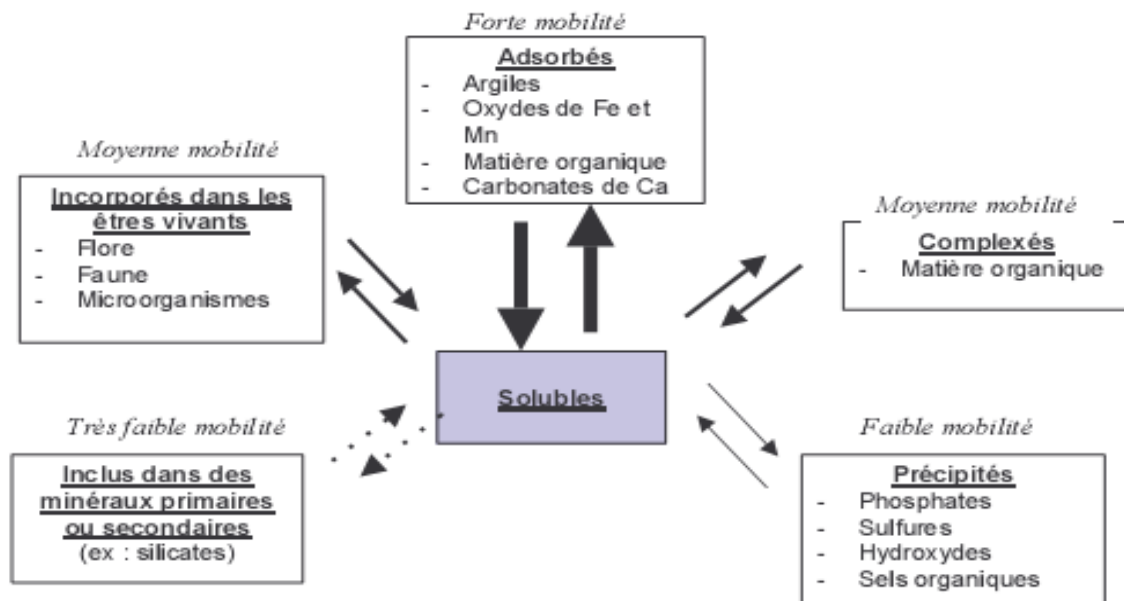
- ❖ Eaux usées domestiques et industrielles ;
- ❖ Production agricole ;
- ❖ Polluants atmosphériques ;
- ❖ Anciennes décharges.

### **I-4 Spéciation des métaux traces dans les solutions du sol**

Suivant les propriétés physico-chimiques des éléments traces, leur état et leur dynamique dans les sols seront différents (**Pédro, Florence et al, 1997**)

D'un point de vue environnemental, la spéciation correspond à la distribution des espèces chimiques d'un élément dans un système (**Bernhard et al., 1986**). La spéciation englobe l'identification, la séparation et la détermination de toutes les formes physico-chimiques d'un élément dans l'échantillon qui réunies, forment la concentration totale de l'élément (**Florence, 1982**). La spéciation chimique a été utilisée dans différents contextes pour décrire: les analyses des espèces pour leur identification et leur quantification; les processus responsables de la distribution des espèces, la réactivité des espèces (**Florence, 1982**). Chaque espèce possède ses propres caractéristiques chimiques et réagira différemment selon l'environnement. La spéciation chimique d'un métal dépend de son état d'oxydation, de son interaction avec les autres composés du système (argiles, matières organique, oxyhydroxydes) et des conditions du milieu (pH) (**Alloway et al, 1995**).

La détermination de la concentration totale en élément, bien qu'insuffisante pour décrire les processus environnementaux, est réalisée dans le but d'estimer l'importance des éléments présents d'un point de vue quantitatif (**Bernhard et al., 1986**). Les éléments traces métalliques (ETM) existent sous plusieurs formes chimiques (particulaires, colloïdales, dissoutes) au sein des formations pédologiques et peuvent être mobilisés dans la solution du sol selon différents mécanismes. Leur passage dans la solution est contrôlée par la forme sous laquelle ils se trouvent dans la phase solide, à savoir: échangeables, complexés à la surface des constituants du sol, ou co-précipités (**Stumm et al., 1970**)(Fig.01).



**Figure 01:** Localisation (spéciation) des éléments en traces métalliques (ETM) dans le sol (**Brümmer et al., 1986**).

Les ions métalliques libres et les espèces neutres, sont les formes les plus réactives, car plus facilement assimilables par les organismes vivants (**Hart, 1981**). Les métaux fortement complexés, ou bien les métaux associés à des particules colloïdales sont moins biodisponibles (**Florence et Batley, 1977**). Des études sur la toxicité de certains métaux, et notamment le cuivre sur les poissons, ont montré que la toxicité n'était pas liée à la concentration totale, mais à la concentration de l'ion libre (**Pagenkopf et al., 1974**). La mesure de la concentration totale n'apporte que peu d'informations pour la prédiction du comportement de l'élément métallique dans l'environnement, d'où l'intérêt d'en connaître la spéciation (**Pédro et Delmas, 1970**). Par ailleurs, un élément métallique retenu à la surface d'un matériau (par physisorption ou chimisorption) sera plus rapidement mis en solution et donc pourra présenter davantage de risque de toxicité que s'il est inséré dans le réseau cristallographique du matériau.

## I.5 Phénomène d'adsorption des éléments métalliques dans les sols

### I.5.1- Physisorption (Adsorption non spécifique)

L'adsorption non spécifique résulte des forces électrostatiques entre atomes portant des charges de signe différent. L'énergie de liaison est faible. Par conséquent, les éléments métalliques adsorbés sont facilement mobilisables en cas de changements physico-chimiques du milieu (**Espiau, P, 1994**).

### I.5.2- Chimisorption (Adsorption spécifique)

L'adsorption spécifique fait intervenir une liaison chimique forte, sans molécule d'eau interposée entre le groupe fonctionnel et la surface de l'ion adsorbé. Les éléments métalliques seront moins susceptibles d'être mobilisés. On parle dans ce cas de complexe de sphère interne (**Espiau, P, 1994**). La forte affinité des composants organiques du sol pour les métaux est principalement due à la présence de nombreux groupements réactifs susceptibles de former des complexes, est résumé dans le tableau 4.

**Tableau 04:** Affinités ETMs-Phases porteuses: par ETM (**Fageria, et al., 2002**).

ETM	Affinités
Cd	Argiles
Co	Fe -MnOOH
Cu	MO > Fe -MnOOH >> argiles
Mn	Fe -MnOOH
Ni	FeOOH, kaolinite
Pb	FeOOH > carbonates > MO > silicates]
Zn	FeOOH, carbonates

### I.6- Facteurs modifiant la mobilité des métaux lourds

#### I.6.1- Potentiel hydrogène (pH)

Le pH constitue un facteur dont le rôle est crucial pour la mobilité des ions métalliques, car il influence le nombre de charges négatives pouvant être mises en solution (**McLaughlin et al., 2000**). Les protons proviennent majoritairement de la respiration végétale et microbienne, de l'oxydation des sulfures. D'une façon générale, lorsque le pH augmente, les cations sont moins solubles et les anions sont plus solubles (**Blanchard, 2000**).

De plus, l'augmentation de pH induit la formation d'espèces précipitées qui peuvent limiter la solubilité et la biodisponibilité de toutes les espèces ioniques (**Deneux-Mustin et al., 2003**). Cependant, elle entraîne également la dissolution de matières organiques et la formation consécutive de complexes organométalliques plus solubles (**Chaignon, 2001**).

Les variations de pH ont donc des conséquences complexes et parfois contraires sur la mobilité des métaux lourds, ceci est classé dans le tableau.

**Tableau 05:** Effets du pH sur la mobilité des micropolluants métalliques des sols et des sédiments (**Chaignon, 2001**).

Mobilité relative	Activité protonique	
	Neutre -alcalin	Acide
Très haute	Se, Mo	B
Haute	As	Zn, Cd, Hg, Co, Ni, Mn
Moyenne	Mn	Cu, Al, Pb, Cr
Basse	Pb, Fe, Zn, Cd, Tl	Fe, Tl
Très basse	Al, Cr, Hg, Cu, Ni, Co	Mo, Se, As

### I.6.2- Potentiel redox (Eh)

Le potentiel redox (Eh) permet de caractériser les échanges entre les espèces chimiques. Ainsi, les formes oxydées prédominent pour un potentiel redox élevé, alors que les faibles valeurs favorisent l'apparition d'espèces réduites. Le  $\text{Cr}^{3+}$  peut ainsi subir une oxydation directe en  $\text{Cr}^{6+}$ , plus mobile et plus toxique. En conditions réductrices, les sulfates sont réduits en sulfures qui piègent les éléments chalcophiles tels que Fe, Zn, Pb, Cd (**Deneux-Mustin et al., 2003**). D'autre part, la dissolution des hydro-oxydes est favorisée entraînant de manière opposée la solubilisation des métaux associés (**Chaignon, 2001**).

### I.6.3- Activité biologique

La compréhension globale des phénomènes biologiques jouant sur la solubilité des métaux dans les sols est rendue difficile par la multiplicité des actions et interactions à tous les niveaux (**Beckett, 1989**).

#### I.6.3.1 Solubilisation

Provient de la production de composés acides tels que les acides carboxyliques, aliphatiques, nitriques et sulfurique. Certaines bactéries chimolithotrophes (*Thiobacillus* et *Leptospirillum*) oxydent les formes réduites du fer et du soufre contenues dans les sulfures et produisent de l'acide sulfurique, susceptible de dissoudre les silicates, les phosphates, les oxydes et les sulfures, libérant ainsi les métaux contenus. Les champignons et les racines des plantes excrètent eux aussi des acides afin d'augmenter leur absorption de nutriments, ou tout simplement comme déchets métaboliques (**Foy et al., 1978**). Cette acidification favorise aussi la mobilité des autres éléments qui ne sont pas indispensables pour le métabolisme végétal.

### I.6.3.2 Insolubilisation

Constitue le phénomène opposé. Bien que le phénomène de détoxification externe des métaux par des exsudats racinaires n'ait jamais été démontré, certains acides organiques de faible masse moléculaire, comme les acides oxalique, citrique ou fumarique qui interviennent dans la complexation intracellulaire d'éléments nutritifs, peuvent très secrétés dans le milieu extérieur. Ils limiteraient ainsi les transferts par des processus de complexation (**Baker, Walker, 1990**).

### I.6.3.3 Volatilisation

Repose sur l'action directe de certains microorganismes sur le degré d'oxydation de l'espèce métallique. C'est le cas du mercure, de l'arsenic et du sélénium. La biométhylation permet le transfert de groupements méthyle directement aux atomes, Pb (plomb), Sn (étain) et Sb (antimoine), permettant leur volatilisation dans l'atmosphère (**Baker, Walker, 1990**).

### I.6.4- Température

La température du sol dépend en premier lieu du climat, mais elle est également liée à l'activité biologique et influence rétroactivement la formation de complexes avec des ligands inorganiques, en modifiant l'activité de l'élément en solution (**Deneux-Mustin et al., 2003**). La température a un impact direct sur la mobilité des éléments métalliques en déplaçant les équilibres des réactions de dissolution-précipitation et co-précipitation, et un impact indirect, en modifiant la teneur en eau du sol, le pH ou le potentiel redox (Eh).

### I.7- Toxicité des métaux lourds

Tout élément est toxique quand il est absorbé en excès par rapport à la capacité d'assimilation de l'organisme. La toxicité des métaux pour les micro-organismes du sol est principalement due à leur capacité à établir des complexes stables avec les protéines ce qui peut altérer les sites actifs ou déplacer des cofacteurs métalliques essentiels (**Baath. E, 1992**).

Les différents types d'effets possibles de sept métaux lourds sur les plantes et les animaux sont présentés dans le **tableau 06**.

La toxicité des métaux lourds pour un même organisme dépend du type de sol, de sa disponibilité de chaque minéral dans ce sol, de l'état physiologique du micro-organisme (**Baath. E, 1992**). Les éléments les plus souvent rencontrés comme phyto toxiques sont le cuivre, le manganèse, le nickel et le zinc (**Logan et Traina, 1993**). Les plus toxiques pour l'Homme sont notamment, le cadmium, le mercure, le chrome et le plomb. Il est ainsi

distingué une toxicité aiguë (absorption en forte dose sur un court laps de temps) et une toxicité chronique (absorption à faible dose sur temps plus long).

**Tableau 06:** Classification de quelques métaux lourds selon leur densité et leur toxicité (Adriano, 2001).

ETM	Plantes	Animaux	Densité g/cm <sup>3</sup>
Cd	T	T	8,65
Cr	-	E	7,20
Cu	E	E	8.92
Ni	T	E	8.90
Pb	T	T	11.34
Zn	E	E	7.14
Mn	E	E	7.20

### I.7.1 Impact toxicologique

#### I.7.1.1 Exposition (Envans , 1989)

Les Hommes sont exposés par inhalation des polluants aériens, la consommation d'eau contaminée, l'exposition à des sols contaminés de déchets industriels. Les métaux peuvent être absorbés sous la forme inorganique ou sous la forme organique. Pour certains éléments, comme l'arsenic et le cuivre, la forme inorganique est la plus toxique. Tandis que pour d'autres, comme Hg, Sn et Pb, les formes organiques sont les plus toxiques. La quantité de métaux absorbée par un Homme influe directement sur sa santé. Elle peut présenter une toxicité aiguë (pic de pollution dans l'air ou l'eau), ou une toxicité due à un effet cumulatif (par une exposition continue au milieu pollué ou parce que l'Homme est en bout de chaîne alimentaire).

Les métaux lourds s'accumulent dans les organismes vivants et perturbent les équilibres et mécanismes biologiques, provoquant des effets toxiques. Ils peuvent affecter le système nerveux, les fonctions rénales, hépatiques, respiratoires, etc.

#### I.7.2 Effets sur la santé

En fait, le risque sur la santé humaine est d'abord associé aux propriétés des métaux lourds à polluer les eaux, l'atmosphère, les aliments et les sols. Et dépendent également de l'état chimique de leur forme chimique, de leur concentration, du contexte environnemental, de la possibilité de passage dans la chaîne du vivant.

Quelques métaux lourds, comme Zn, Cu, Mn et Fe, sont indispensables à la croissance et au bien-être des organismes vivants. On peut néanmoins s'attendre à ce qu'ils aient des effets toxiques quand les organismes sont exposés à des niveaux de concentration supérieurs à ceux qu'ils requièrent normalement. D'autres éléments, comme Pb, Hg et Cd, ne sont pas indispensables aux activités métaboliques et manifestent des propriétés toxiques (**Tableau 07**) (**Smith et al., 1998**).

Les effets toxicologiques en matière de santé publique pour le cadmium, le mercure et le plomb ont été largement mis en évidence par des travaux antérieurs. En effet, la toxicité du plomb vis-à-vis du système nerveux et des reins a été soulignée en 1999 (**Anonyme b, 1986**). Le saturnisme a été la première maladie professionnelle reconnue (**Fageria, et al., 2002**). La toxicité du cadmium résulte principalement de l'inhibition des enzymes thiols ainsi que de son affinité pour les hydroxyles et les carboxyles.

Il est également l'agent étiologique de la maladie qui se manifeste par des troubles osseux et l'augmentation du taux de phosphatase alcaline (**Geological. U.S, 1984**). L'exposition chronique à de faibles doses en cadmium provoque des dommages aux tubules rénaux, suivis de protéinurie, lésions pulmonaires et hypertension artérielle (**Bernard, 1997**). La transformation du mercure en un dérivé alkylé, le méthyl mercure, a été à l'origine de la catastrophe écologique de la baie de Minamata (**Baath1992**); la contamination par le mercure peut causer des pharyngites, des gastroentérites, des néphrites, des troubles de la circulation ou des dépôts au niveau des neurones.

**Tableau 07** : Principaux effets des métaux lourds (**Baath1992**).

Eléments	Effets
As	Toxique, possible cancérigène
Cd	Hypertension, dommage sur le foie
Cr	Cancérigène sous forme de Cr (VI)
Cu	Peu toxique envers les animaux, toxique envers les plantes et les algues à des niveaux modérés
Hg	Toxicité chronique et aigue
Ni	Allergies de peau, maladie respiratoires possible cancérigène
Pb	Toxique
Se	Essentielle à faible doses, toxique à doses élevées
Zn	Toxique pour les végétaux à fortes teneurs

### I.7.3 Effet sur les végétaux

Le premier effet des métaux lourds observable chez les végétaux est une inhibition de la croissance. Celle-ci s'accompagne très souvent de nombreux autres indices de dysfonctionnement : chlorose foliaire, importantes lésions nécrotiques, jaunissement progressif, repliement ou dessèchement du feuillage, etc. A l'heure actuelle, les bases moléculaires de ces perturbations sont encore mal connues, mais on admet généralement qu'elles résultent d'un stress oxydatif, dû à la production d'espèces réactives de l'oxygène ou « Réactive Oxygen Species » (ROS). Les ROS altèrent toute une série de substrats biologiques importants, avec comme conséquence la modification des domaines fonctionnels des biomolécules : inhibition de l'activité enzymatique, perturbation du métabolisme végétal (notamment la photosynthèse et la respiration), oxydation de protéines, altération des membranes cellulaires via l'induction de phénomènes de peroxydation lipidique, apparition de cassures au sein de l'ADN, pouvant conduire à la mort cellulaire (**Devi et Prasad, 1999 ; Dietz et al., 1999 ; Cheng, 2003**).

## I.8 - Caractéristiques Cuivre et Zinc

### I.8.1- Cuivre

Le cuivre est un métal dont les conductibilités thermique et électrique sont particulièrement élevées et est, comme la majorité des métaux, ubiquitaire non seulement

dans la croûte terrestre à des niveaux variant entre 5 mg/kg et 70 mg/kg (ATSDR, 2004), mais également à titre d'oligo-éléments dans tous les animaux et les plantes. Le cuivre métallique (Cu<sup>0</sup>) peut être retrouvé dans l'environnement, mais demeure néanmoins relativement rare (**Barbalace, 2012**); il s'y trouve surtout sous ses formes Cu(II) et Cu(III). Sous sa forme métallique, le cuivre n'est pas soluble, mais certains de ces complexes le sont, notamment ceux issus de Cu(II). Le **tableau 05** présente les principales propriétés physicochimiques du cuivre.

**Tableau 08** : Propriétés physicochimiques du cuivre. (**Barbalace, 2012**)

Propriétés	Valeurs
Masse molaire	63,546 g/mol
Pression de vapeur	0,0505 Pa à 1085 °C
Solubilité dans l'eau	Non soluble à 20 °C
États d'oxydation	5 (0, +1, +2, +3 et +4)

### I.8.1.1 - Cuivre dans le sol

D'après **Loué (1993)**, le teneur total variant de 3 à 100 ppm suivant les sols ayant reçu de nombreux traitements anticryptogamiques à base de Cu. La teneur en Cu total d'un sol est reliée à celle de la roche mère (**Baize, 2000**), et selon les auteurs **Coic et Coppenet (2000)**, les teneurs totales en cuivre inférieur ou égale à 7 ppm entraînent des carences cupriques et, en revanche, des toxicités apparaissent au-delà de 180 ppm.

### I.8.1.2 - Différentes formes d'un même élément

Dans les roches de l'écorce terrestre, Cu se trouve principalement sous forme de sulfures, soit sulfures simples soit sulfures complexes comportant d'autres métaux, la forme la plus courante dans le sol est l'ion divalent Cu<sup>++</sup>, peu mobile car fortement adsorbé sur le complexe argilo-humique, particulièrement par la matière organique (**Loué, 1993**).

Une analyse approfondie conduirait à distinguer chaque forme, chaque espèce chimique: c'est la spéciation (**Baize, 2000**).

Voici à titre d'exemple, les diverses formes chimiques du cuivre que l'on peut trouver dans les sols :

- Complexes : citrates, fulvates, humates, oxalates, etc.
- Anions:  $\text{HCuO}^{2-}$  et  $\text{Cu}(\text{CO}_3)^{2-}$  ;
- Cations :  $\text{Cu}^{++}$  et  $\text{CuOH}^+$  (ion hydroxo) ;

- Espèce neutres :  $\text{CuCO}_3$  (carbonates) ;  $\text{Cu(OH)}_2$  (hydroxyde).

### I.8.1.3 Mobilité de cuivre chez les plantes

Le cuivre est peu mobile au sein de la plante, ses déplacements dépendant étroitement de l'état nutritionnel général, et en particulier du métabolisme de l'azote (**Loué, 1993**) : le cuivre est relativement immobile pour les plantes souffrant de carence, tandis que sa mobilité est maximale dans le cas d'une consommation de luxe (**Kabata-Pendias et Pendias, 1992**). Les racines ont en effet une forte capacité à immobiliser le cuivre, au niveau des parois cellulaires, et les mécanismes de translocation sont encore mal connus. Dans les feuilles, le cuivre semble principalement lié aux plastocyanines, tandis que dans le xylème et le phloème, où les concentrations sont de l'ordre de traces, les concentrations sont liées à celles d'acides aminés. Sur une culture de maïs (**Jarausch Wehrheim et al., 1996**).

### I.8.1.4 - 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.

### I.8.1.5 - Correction de la déficience en cuivre

Pour corriger les déficiences de Cu, on peut appliquer les engrais sous forme minérale ou organique (**Loué, 1993**).

### I.8.1.6 -Excès du cuivre

Le signe le plus net de l'excès de Cu est l'induction des symptômes de la chlorose Fe, par ailleurs, la croissance est réduite, et plus particulièrement celles des racines qui sont épaisses, moins ramifiées, avec des radicelles de couleur anormalement foncée (**Loué, 1993**).

### I.8.1.7 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.

### I.8.1.8 Rôles du Cu chez les végétaux

Des 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**) :

- La 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 (**Loue, 1993**).

La teneur moyenne de cuivre dans les végétaux est généralement inférieure à 20 Cg.g<sup>-1</sup> MS (**Kabata-Pendias et Pendias, 1992**). En deca d'une concentration de 2 à 5 Cg.g<sup>-1</sup> MS dans les parties végétatives, les symptômes de carence en cuivre sont observés : croissance ralentie, déformation et blanchissement des jeunes feuilles, nécrose de l'apex, etc. De nombreux processus métaboliques sont alors affectés (**Loue, 1993**) : métabolisme des hydrates de carbone, de l'azote ou encore des parois cellulaires. Inversement, au-delà de 20 à 100 Cg.g<sup>-1</sup> MS, ce sont les symptômes de toxicité qui apparaissent, inhibant la croissance de racines avant celle des parties aériennes. Cette toxicité peut se traduire par une déficience en fer et une chlorose en conséquence du dérèglement de la peroxydation des lipides et de la destruction des membranes. En sol, la toxicité du cuivre est rarement observée du fait des fortes liaisons du métal pour les différentes composantes du sol. Les végétaux disposent d'un mécanisme de tolérance aux éléments traces métalliques. Pour le cuivre, les mécanismes principaux sont la compartimentation de complexes solubles ou non, dans le cytoplasme ou les vacuoles (**Marschner, 1995**). La toxicité peut être induite à des concentrations très différentes, selon la plante et le sol étudié.

### I.8.1.9 Effet de cuivre chez L'Homme

Le cuivre, à très faible dose est un oligo-élément indispensable à la vie (**Fergusson, 1990 ; Alloway et Ayres, 1997**). Il est notamment nécessaire à la formation de l'hémoglobine et remplace même le fer pour le transport de l'oxygène chez une espèce

d'arthropode, le limule, dont le sang est bleu, (Fergusson, 1990 ; Alloway et Ayres, 1997). Chez l'Homme et les mammifères, régulés par le foie, le cuivre intervient dans la fonction immunitaire et contre le stress oxydant, son manque cause le syndrome de Menke (Plumlee et Ziegler, 2003). Le cuivre est aussi, à dose plus élevée et sous ses formes oxydées, un puissant poison pour l'Homme, causant la maladie de Wilson (Plumlee et Ziegler, 2003).

### I.8.2 – Zinc

Le zinc est l'un des métaux les plus abondants de la croûte terrestre, soit entre 0,9 mg/kg à 169 mg/kg (Anonyme b, 2005). Sous sa forme métallique, il possède un aspect blanc bleuté, résiste bien à la corrosion et est insoluble dans l'eau bien que plusieurs de ses formes notamment celles complexées avec du soufre. La structure chimique et physique du zinc ressemblant beaucoup à celle du cadmium, ce dernier est pratiquement toujours présent sous forme d'impuretés dans les gisements de zinc. Le **tableau 06** expose les principales propriétés physicochimiques du zinc.

**Tableau 09:** Propriétés physicochimiques du zinc (Barbalace, 2012).

Propriétés	Valeurs
Masse molaire	65,39 g/mol
Pression de vapeur	19,2 Pa à 419,73 °C
Solubilité dans l'eau	Non soluble à 20 °C
États d'oxydation	2 (0 et +2)

#### I.8.2.1- Zinc dans le sol

D'après Loué (1993), la teneur des sols en Zn total dépend beaucoup de celle de la roche mère et se situe entre 10 et 300 ppm. Selon Baize (2000), le zinc est présent le plus souvent sous forme de sulfure (blende) dans des filons hydrothermaux et des gites stratiformes imprégnant des roches sédimentaires où il se trouve associé au plomb, au fer, et au cuivre (association blende, pyrite, Galena et chalcopyrite).

Le zinc peut être considéré comme très mobile. Les formes les plus mobiles du zinc seraient facilement adsorbées par les constituants organiques et minéraux des sols.

#### I.8.2.2- Solubilité du Zinc

Le zinc diffère du cuivre du fait que son sulfure est plus soluble. La solubilité de Zn est particulièrement faible dans les sols à haut pH. La solubilité de Zn du sol et des minéraux Zn est maximale à pH= 4 et beaucoup plus faible dans les conditions neutres et

surtout alcalines. La solubilité de Zn dans les sols peut être améliorée par des engrais acidifiants (**Loué, 1993**).

Des études avec  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ont montré qu'en présence de fortes concentration  $\text{SO}_4^{2-}$  il y avait formation de  $\text{ZnSO}_4$  particulièrement mobiles dans les sols et susceptible d'augmenter l'assimilabilité de Zn.

### **I.8.2.3 - Mobilité du Zinc chez les plantes**

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 ou ils se concentrent dans les chloroplastes, les vacuoles et les membranes cellulaires. Lors de la translocation, le zinc est chélate à des acides organiques (**Tremel-Schaub et Feix, 2005**).

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**).

### **I.8.2.4 - Causes de déficience**

D'après **Loué (1993)**, Les principaux facteurs susceptibles d'engendrer ou d'aggraver la déficience en zinc sont soit la pauvreté naturelle des sols en zinc, soit la mauvaise assimilabilité de Zn et les conditions favorables à ces déficiences sont bien identifiées :

- Sols à bas niveau en Zn (en particulier les sols sableux acides lessivés) ;
- Sols pauvres en matière organiques ;
- Sols calcaires (Zn du sol moins assimilable) ;
- Basses températures.

Mais il y a aussi des traitements du sol et des pratiques culturales qui sont susceptibles d'accroître les cas de déficience en Zn :

- ❖ Sols nettement enrichis en P par la fertilisation pratiquée (mais l'effet de P sur l'absorption de Zn varie avec les sols et les cultures et avec les niveaux P, Zn en cause) ;
- ❖ Système racinaire mal développé (sols compactés, sols trop souvent nivelés pour l'irrigation) ;
- ❖ Chaulage des sols acides à trop fortes doses ;

- ❖ Fortes fertilisations N éventuellement.

### **I.8.2.5 - Symptômes de déficience en zinc**

D'une manière assez générale, les symptômes les plus permanents de la déficience en Zn sont des signes de chlorose entre les nervures, de réduction de taille et de malformation des rameaux et des feuilles. La déficience du Zn perturbe le métabolisme de l'auxine (entre-nœuds plus courts) et inhibe la synthèse de l'ARN, nuisant ainsi au développement normal des chloroplastes (**Loué, 1993**).

### **I.8.2.6 - 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 400 ppm, le déséquilibre nutritionnel peuvent en résulter et il est démontré que les teneurs des tissus végétaux en P et Fe sont diminuées.

### **I.8.2.7 - Plantes sensibles et symptômes de carences 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**).

### **I.8.2.8 Rôle du zinc**

Le zinc entre dans la composition d'un très grand nombre d'enzymes (plus de 300), au sein desquelles il remplit trois types de fonctions : catalytiques, co-catalytiques ou structurales. Le zinc est particulièrement important pour le métabolisme des sucres, des protéines et des phosphates, mais il joue également un rôle par rapport à l'ADN, via des métalloprotéines impliquées dans la réplication et la transcription de l'ADN, et donc la régulation de l'expression des gènes. De plus, le zinc influence également l'intégrité et la perméabilité des membranes, et permet la protection des lipides et protéines membranaires du stress oxydant.

La teneur moyenne de zinc présent dans les végétaux est très variable, mais elle est généralement comprise dans une fourchette allant de 15 à 70 Cg.g<sup>-1</sup> MS. De plus, dans les plantes cultivées sur des sols contaminés, la concentration peut dépasser 100 Cg.g<sup>-1</sup> MS, une grande proportion du métal étant concentrée dans les racines.

Chez les végétaux, une carence en zinc entraîne des modifications morphologiques des feuilles (taille réduites, déformations), et chez les dicotylédones, un raccourcissement de l'entrenœud, conduisant à un raccourcissement de la tige. Les niveaux critiques de carence dans les feuilles sont estimés entre 10 et 20 Cg.g<sup>-1</sup> MS.

Différents facteurs imposés par le sol peuvent être à l'origine d'une déficience en zinc : des teneurs en zinc faibles, une nature calcaire et un pH supérieur à 7, une faible teneur en matière organique et une inactivation par les microorganismes. De plus, l'assimilation du zinc peut être réduite par les difficultés d'exploration du sol par les racines et des températures basses, ou encore des effets antagonistes (avec le cuivre, le fer ou le phosphore par exemple). Enfin, le seuil de carence est variable entre les espèces végétales (**Marcato, 2007**).

Les concentrations considérées comme toxiques sont estimées entre 100 et 400 Cg.g<sup>-1</sup> MS (**Kabata-Pendias et Pendias, 1992**). Cette toxicité se traduit par une réduction de la croissance des racines et des feuilles, suivie d'une chlorose des jeunes feuilles pouvant être induite par une carence en fer ou magnésium. Le principal mécanisme de tolérance au zinc consiste en l'immobilisation du métal dans les vacuoles (**Marschner, 1995**).

#### **I.8.2.9 Effet de zinc chez l'Homme**

Le zinc possède également un effet toxique chez les animaux et chez l'homme, dans les poissons la dose létale est comprise entre 0,5 et 5 mg.l<sup>-1</sup> en Zn (Moore et Ramamoorthy, 1984). À la dose de 150 et 650 mg, Zn est toxique chez l'homme, mais si cette dose descend au-dessous de 6 g, elle est létale (**Emsley, 1991**). Les troubles physiologiques humains causés par ce type d'intoxications dans un cas primaire, vont comprendre des nausées et des troubles du système gastro-intestinal, et seront suivis de complications dans le système respiratoire ainsi que par des affections cutanées (**Yong et al., 1993**). Enfin, Zn est soupçonné être cancérigène pour l'homme (**Emsley, 1991 ; Yong et al., 1993**).

# **Chapitre II**

## **Généralité sur la salinité**

## II.1. Données sur le stress

### II.1.1-Définition du stress

Un stress est l'ensemble des perturbations biologiques provoquées par une agression quelconque sur un organisme. Selon **Levitt (1980)**, c'est un facteur de l'environnement induisant une contrainte potentiellement néfaste sur un organisme vivant.

La notion du stress biologique est le changement plus ou moins brusque par rapport aux conditions normales de la plante ou de l'animal, et la réaction sensible de l'individu dans les différents aspects de sa physiologie laquelle change sensiblement avec l'adaptation à la nouvelle situation à la limite de dégradation menant à une issue fatale (**Leclerc, 1999**).

Les dommages causés par le stress salin à long terme est surtout le déséquilibre ionique et la toxicité provoqués par le  $\text{Na}^+$  plutôt que l'effet du sel sur le potentiel hydrique réduisant la disponibilité en eau (**Munns, 2002 ; Belkheiri, 2007**).

### II.1.2- Types de stress

On peut distinguer deux types du stress dans la nature :

#### II.1.2.1. Stress biotique

Imposé par d'autre organisme (insectes, herbivores...), ils sont nombreux et ont pour origine les virus, les organismes phytophages et les pathogènes. Afin d'y faire trace, la plante met en place un système de défense qui intervenir une chaine de réaction. Les protéines végétales défensives produites font office de rempart contre les agents nuisibles (**Shlpi et Narendra, 2005**).

#### II.1.2.2. Stress abiotique

Il est dû principalement à des facteurs environnementaux comme la sécheresse, les températures extrêmes, excès d'eau (asphyxie racinaire), la salinité, etc. On peut citer quelques types des stress abiotiques qui peuvent affecter les végétaux :

##### 1. Stress hydrique

Provoqué par un déficit en eau constituant un menace permanent pour la survie des plantes, néanmoins, beaucoup d'entre elles produisent des modifications morphologiques et physiologiques qui leurs permettent de survivre dans les régions de faible pluviosité et dont la teneur en eau des sols est peu élevée (**Hopkins, 2003**).

## 2. Stress thermique

Provoqué par la température, c'est l'un des facteurs les plus limitant et qui conditionne la production et la croissance des plantes.

## 3. Stress salin

Le stress salin est défini comme une concentration excessive en sel. Le terme stress salin s'applique surtout à un excès des ions, en particulier Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> (**Hopkins, 2003**).

### II.2- Définition de la salinité

La salinité est définie selon plusieurs chercheurs comme la présence d'une concentration excessive de sels solubles dans le sol ou dans l'eau d'irrigation (**Baiz, 2000 ; Maatougui, 2001**). C'est un facteur environnemental très important qui limite la croissance et la productivité (**Allakhverdiev et al., 2000 ; Bouzid, 2010**). La salinité élevée des sols due essentiellement au chlorure de sodium affecte le tiers des terres irriguées à l'échelle mondiale et constitue un facteur limitant prépondérant de la production végétale dans les zones arides (**Hasegawa et al., 1986 ; Ndeye Thioro, 2000**).

#### II.2.1- Types de salinité

Bien que l'altération des roches et les minéraux primaires soit la principale source de tous les sels, les sols salés sont rarement formés par accumulation de sels *in situ*. Plusieurs causes sont à l'origine de ce phénomène (**Maillard, 2001**).

##### II.2.1.1- Salinisation primaire

D'après **Mermoud (2006)**, près de 80 % des terres salinisées ont une origine naturelle « édaphique », on qualifie alors la salinisation de « primaire ». Dans ce cas, celle-ci est due à la formation des sels pendant l'altération des roches ou à des apports naturels externes :

- Dans les régions côtières, intrusion de l'eau salée ou submersion des terres basses ;
- Inondation périodique par de l'eau de mauvaise qualité ;
- Remontée d'une nappe phréatique salée près de la zone racinaire.

Ce type de sol est très fréquent dans les zones arides dû à une évapotranspiration potentielle qui dépasse largement la quantité d'eau arrivée au sol (**Antipolis, 2003**).

### II.2.1.2- Salinisation secondaire

Près de 20% des terres salinisées ont une origine humaine ou anthropique ; sont qualifiées de «secondaires» dû principalement à l'irrigation des terres avec une eau de mauvaise qualité (eau saline), un lessivage insuffisant et un drainage défaillant (**Anonyme c, 2006; Le goupil, 1974**).

## II.3- Salinité et la plante

### II.3.1. Composantes de la salinité

Les composantes de la salinité sont : les stress osmotique, ionique, nutritionnel et oxydatif.

#### II.3.1.1. Le stress osmotique

La première conséquence de la salinisation tient à la modification du potentiel osmotique de la solution du sol, lorsque la teneur en sels croît. Selon **Song et al (2005)**, plus la solution du sol est salée, plus la pression osmotique est élevée et plus il est difficile pour les racines d'extraire l'eau de la réserve du sol. Il en résulte ainsi un ralentissement de leur croissance.

D'après **Chinnusamy et al. (2004)**, la concentration en sels dépend de la teneur en eau du sol et augmente avec le dessèchement ; c'est pourquoi l'excès de sels qui affecte les plantes est atteint beaucoup plus rapidement dans un sol sableux que dans un sol argileux qui piège les ions  $\text{Na}^+$  via les charges négatives de l'argile.

#### II.3.1.2. Stress ionique

Lié à la composition en éléments du sol (carences ou toxicité en certains ions) : un déficit en N, P, Mo, Cu, Zn, Fe, B, etc. peut avoir des conséquences importantes sur le développement des plantes. Un excès de minéraux Al, Na, Cl, etc. peut avoir des effets toxiques (**Monneveux et This, 1997**). Par titre des concentrations excessives de  $\text{Cl}^-$  d'ions dans la solution du sol peuvent causer peuvent provoquer une brûlure des extrémités des feuilles et un jaunissement prématuré de celles-ci. Cependant, les symptômes de toxicités typiques aux ions sodium  $\text{Na}^{2+}$  sont des brûlures de feuilles, le dessèchement et la mort des tissus sur les bords externes des feuilles, contrairement aux symptômes causés par des ions  $\text{Cl}^-$  qui apparaissent normalement à l'extrême pointe des feuilles (**Maillard,2001**).

Selon **Chinnusamy et al. (2004)**, l'accumulation des ions toxiques  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  au niveau du mésophylle des feuilles, affecte la croissance et le métabolisme de la plante où le sel endommage les structures lipidiques et protéiques des membranes plasmiques. Ainsi la présence de ces ions perturbent l'activité enzymatique cellulaire principalement dans les

tissus photosynthétiques (Hasegawa *et al.*, 2000). Chinnusamy *et al.* (2004), voient que la toxicité ionique peut être le résultat du remplacement de  $K^+$  par  $Na^+$  au niveau des sites actifs de protéines induisant aussi un changement des structure protéiques et enzymatiques.

### II.3.1.3. Stress nutritionnel

Selon Snoussi et Halitim (1998), certains sels peuvent affecter la balance nutritionnelle chez les plantes s'ils sont présents en concentration excessive ou en proportion anormale. La présence excessive d'ions sodique, chlorique et borique peut provoquer une augmentation du pH du sol, ce qui a un effet indirect sur l'impossibilité d'absorption des ions ferreux, phosphate, zinc et manganèse indispensable pour la croissance des plantes (Maillard, 2001).

Des concentrations salines trop fortes dans le milieu provoquent une altération de la nutrition minérale des plantes (Levigneron *et al.*, 1995 ; Haouala *et al.*, 2007). D'après Haouala *et al.* (2007), l'accumulation des ions  $Na^+$  dans la plante limite l'absorption des cations indispensables tels que  $K^+$  et  $Ca^{2+}$ . Il y aurait une compétition entre  $Na^+$  et  $Ca^{2+}$  pour les mêmes sites de fixation apoplasmique. Ainsi ; l'augmentation de la concentration en  $Na^+$  s'accompagne d'une réduction de la concentration en Mg, K, N, P et Ca dans la plante. Ce déséquilibre nutritionnel est une cause possible des réductions de croissance en présence de sels lorsque des ions essentiels comme  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  ou  $NO_3^-$  deviennent limitant (Haouala *et al.*, 2007).

Selon Tester et Davenport (2003) et Jabnoune (2008), les effets osmotiques du stress salin peuvent également limiter la croissance des racines, ce qui limite les possibilités d'absorption des éléments nutritifs du sol.

### II.3.1.4. Stress oxydatif

Selon Parent *et al.* (2008), une conséquence des stress environnementaux, comprenant le stress salin, est l'apparition du stress oxydatif, c'est-à-dire l'accumulation d'espèces réactives d'oxygène (ROS) à des concentrations élevées, qui endommagent les structures cellulaires.

Ces derniers sont à l'origine du dysfonctionnement de l'appareil photosynthétique et les autres troubles métaboliques. La plupart d'entre eux sont des peroxydes d'hydrogène, des radicaux hydroxyles et des anions super oxyde (Rahnama et Ebrahimzadeh, 2005).

Des antioxydants nécessaire pour faire face au ROS et de maintenir leur concentration à faible niveau dans les cellules lors du stress (Reddy *et al.*, 2004).

## II.4- Impact de la salinité sur les plantes

Les fortes concentrations en sel altèrent la structure des sols; comme la diminution de la porosité, l'aération et la conductance hydrique des sols peuvent être affectées; des concentrations salines élevées génèrent de bas potentiel hydrique du sol, une forme de sécheresse physiologique créant une acquisition d'eau et de nutriments par les plantes, très difficile (Singh et Chatrath, 2001; Hopkins, 2003).

### II.4.1. Effets de salinité sur la germination

La présence excessive des sels solubles peut causer une forte pression osmotique chez les plantes et l'inhibition de la germination des graines ainsi que le développement de la plante entière en réduisant sa capacité à retenir l'eau entraînant des conséquences sur le niveau de croissance et sur l'activité métabolique (Munns, 2002 ; Belkhodja et Bidai, 2004). Plusieurs études ont montré que le sel a un effet dépressif sur le taux de germination, sur la croissance biologique et sur la production des grains (M'barek *et al.*, 2001). Cependant, cet effet varie en fonction de l'intensité du stress et de la variété des plantes et cela; soit en diminuant la quantité d'eau et la vitesse de son absorption par la graine, soit par l'accroissement de la pression osmotique de l'eau d'imbibition qui est trop élevé pour permettre la germination (Katembe *et al.*, 1998), ou en augmentant la pénétration d'ions qui peuvent s'accumuler dans la graine à des doses qui deviennent toxiques (Debez *et al.*, 2001).

### II.4.2. Effet de la salinité sur la physiologie de la plante

#### II.4.2.1-Effet de salinité sur la réduction générale de la croissance

La tolérance d'une culture à la salinité est une valeur relative basée sur les conditions de croissance de cette culture, la résistance au sel dépend de la complexité anatomique et physiologique de la plante (Zhu, 2001). Le NaCl peut augmenter la croissance et le développement des plantes, mais à un certain taux, le sel peut nuire et endommager la croissance et le développement des plantes à cause du changement du potentiel osmotique, du déséquilibre ionique et de la toxicité ionique dans les cellules (Guerrier, 1983).

En présence des conditions salines, une diminution dans la croissance de l'appareil végétatif aérien et une stimulation du développement racinaire ont été observées. Des irrigations avec une eau contenant 8 g/l de sel provoque une réduction de la biomasse aérienne (hauteur et surface foliaire) de certaines variétés de blé (M'barek *et al.*, 2001). L'accumulation de sel dans les tissus de plantes au-dessus de la normale va causer une certaine inhibition du rendement (Lauchli et Eptein, 1990; Higazy *et al.*, 1995).

#### II.4.2.2. Effets de salinité sur la photosynthèse

La croissance des plantes, telle que la production de la biomasse, est une mesure principale de la photosynthèse nette et donc, la plupart des stress environnementaux et en particulier le stress salin diminuent la croissance et réduisent nettement le taux de la photosynthèse (Kawasaki *et al.*, 2001; Chaves *et al.*, 2008). Quelques études ont montré que la salinité n'a aucun effet négatif sur le photosystème II (PSII) (Morales *et al.*, 1992), alors que récemment d'autres études ont prouvé que la contrainte saline inhibe l'activité du PSII (Ghanem *et al.*, 2008). Bien que la photosynthèse n'est pas toujours ralentie par la salinité mais elle est également stimulée par des basses concentrations en sels dans quelques espèces (Kurban *et al.*, 1999). La salinité diminue l'assimilation de CO<sub>2</sub> par des réductions de surface des feuilles (Munns *et al.*, 2000), conductibilité des stomates (Parida *et al.*, 2003) et le bon fonctionnement de photosystèmes (Redondogomez *et al.*, 2008).

#### II.4.2.3. Effet de salinité sur le métabolisme azote

Chez les légumineuses, le métabolisme azote et la synthèse protéique sont sévèrement affectés par le stress salin, limitant ainsi fortement la productivité et le développement normal des plantes (Pessaraki *et al.*, 1989). Cette contrainte provoque aussi la diminution de l'activité de la nitrogénase et d'autres enzymes impliquées dans l'assimilation de l'azote (Delgado *et al.*, 1993), la salinité peut même affecter la vie microbienne du sol et donc la minéralisation de l'azote.

### II.4.3. Effet de la salinité sur la morphologie de la plante

#### II.4.3.1. Effets de salinité sur les feuilles

La salinité provoque de nombreux changements anatomiques de la feuille chez un certain nombre de plantes. Les feuilles de l'haricot, le coton et l'*Atriplex* discernent une augmentation de l'épaisseur épidermique, l'épaisseur mesophyllienne, la longueur de cellules palissadiques, les diamètres du palissade et des cellules spongieuses suite à l'augmentation de la salinité (Longstreth et Nobel, 1979). En revanche, l'épaisseur épidermique et mesophyllienne et les espaces intercellulaires ont diminué sensiblement dans les feuilles de *Brugueira parviflora* traitées par NaCl (Parida *et al.*, 2004).

#### II.4.3.2. Effets de salinité sur les racines

La salinité affecte en particulier la croissance des racines des plantes (Läuchli et Epstein, 1990 ; Bayuelo *et al.*, 2002) ont montré qu'elle augmente le rapport PR/PA. En effet, les plantes maintiennent une croissance racinaire relativement importante sous forte contrainte saline, l'augmentation du rapport PR/PA qui s'ensuit semble être associée à une augmentation de leur tolérance au sel. Kafkai (1991), suggère que sous contrainte saline, la

plante dépense plus d'énergie photosynthétique pour maintenir un statut hydrique élevé et pour la production de racines en vue de la recherche d'eau et/ou la réduction de la perte d'eau. Dans ces conditions, il semble que l'arrêt de la croissance foliaire soit déclenché par des signaux hormonaux (Munns, 2002) et qu'une part importante des photosynthétats soit alors réallouée à la croissance racinaire. C'est l'une des réponses anatomiques clefs aux stress osmotiques chez de nombreuses espèces, dont le caractère adaptatif apparaît évident puisqu'une augmentation du ratio masse des racines/masse de la canopée maximise la surface d'absorption de l'eau en diminuant la surface d'évaporation (Munns, 2002).

#### II.4.4. Effet de la salinité sur le rendement agronomique

Les composantes du rendement tels que le nombre de talles par plante, les nombres d'épis, le nombre d'épillets par épi et le poids du grain, sont élaborés de façon séquentielle dans le temps. Munns et Rawson (1999), ont montré que tous les paramètres de rendement subissent une réduction sous l'action de la salinité et que, plus la salinité est élevée plus le rendement est réduit. Lorsque l'orge est soumise à un stress salin au cours de l'épiaison ou la différenciation de l'épi, le nombre d'épillets par épi est réduit ainsi que le nombre des grains. Ainsi ils ont montré que la salinité a un effet néfaste sur la remobilisation des réserves au cours de la phase de remplissage des grains. La salinité diminue le rendement plus souvent en réduisant le nombre de pointes portant les épillets, le poids de l'épi et le poids de 1000 graines (Munns et Rawson, 1999).

#### II.5. Réponse et la stratégie adaptative de la plante aux stress salin

Les plantes peuvent répondre aux stress de diverses façon ; elles accomplissant leur croissance durant les périodes de moindre stress ou bien ne peuvent pas le supporter auquel cas elles peuvent subir des lésions. Ou bien, subies des modifications spécifiques de leur métabolisme leur permettant d'éviter ou de tolérer les effets de stress (Enita, 2000). Les plantes réagissent à ces variations de la salinité dans le biotope pour déclencher des mécanismes de résistance. Parmi ces mécanismes, l'ajustement osmotique joue un rôle primordial dans la résistance ou la tolérance de la plante à un stress (Belfakih *et al.*, 2013). Celui ci est réalisé grâce à une accumulation de composés osmorégulateurs conduisant à une réduction du potentiel osmotique permettant ainsi le maintien du potentiel de turgescence (El Midaoui *et al.*, 2007), principalement des composés aminés et des sucres (Levigneron *et al.*, 1995).

### II.5.1. Exclusion

La plante empêche le sel de remonter jusqu'aux feuilles ; une première barrière existe au niveau de l'endoderme (couche interne de cellules de la racine). Cependant, cette barrière peut être interrompue, en particulier de l'émergence des ramifications de la racine. D'autres mécanismes limitent le passage de sel des racines vers les feuilles mais les gènes qui les gouvernent sont encore largement inconnus (**El Madidi, 2003**).

### II.5.2. Inclusion (Compartimentation)

La plante capte le sel, qui parvient aux feuilles, au même titre que l'eau, par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux. A l'intérieur des cellules, le sel est alors stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de "pompes" moléculaires. Les vacuoles sont des compartiments fermés au sein de la cellule. Le sel est ainsi isolé des constituants cellulaires vitaux (**El Madidi, 2003**).

### II.5.3. Ajustement osmotique

L'ajustement osmotique apparaît aujourd'hui comme un mécanisme majeur d'adaptation, il peut intervenir à tous les stades de développement et son caractère inductible suggère qu'il n'a pas (ou peu) d'incidence sur le rendement potentiel. L'ajustement osmotique joue un rôle primordial dans la résistance ou la tolérance de la plante à un stress (**Kara et al., 2011**). La plante devra synthétiser des solutés organiques pour ajuster son potentiel hydrique (**Belfakih et al., 2013**).

#### II.5.3.1. Accumulation de la proline

L'accumulation de la proline chez les halophytes conduit à la diminution de la production des espèces oxygénées réactives (EOR) (**Jithesh et al., 2006**). La proline intervient dans la régulation du pH cytoplasmique et constitue une source de carbone et d'azote durant les périodes de stress (**Denden et al., 2005**). L'accumulation de la proline est observée chez *Sesuvium portulacastrum* dans des conditions de déficit hydrique et chez *Atriplex halimus* en présence de sel. Chez l'*Atriplex halimus* L. cet osmolyte se concentre dans le sens racines, tiges et feuilles à des teneurs significativement élevées lorsque la salinité du milieu extérieur augmente (**Djerroudi-Zidane et al., 2010**). Des teneurs faibles en proline sont observées au niveau des graines de *Kosteletzkya virginica* soumises à un stress salin. Cependant, lorsque les graines germent, le contenu de cet osmolyte augmente considérablement (**Poljakoff-Mayber et al., 1994**). Des concentrations faibles en proline protègent efficacement les graines de nombreuses halophytes ; *Halogeton glomeratus*, *Salicornia utahensis* et *Triglochin maritima* (**Gul et al., 2000**) contre les effets toxiques du NaCl (**Poljakoff-Mayber et al., 1994**). Chez *Kochia sieversiana*, soumise à un stress salin,

le taux d'accumulation de la proline est 13 fois plus par comparaison au témoin (Yang *et al.*, 2007).

### II.5.3.2. Accumulation des sucres solubles

Les sucres sont des osmolytes fréquemment retrouvés chez les plantes exposées à un stress salin. (Ruffino *et al.*, 2010). Une augmentation du contenu en sucres solubles, principalement le saccharose est associée à l'adaptation des halophytes aux conditions salines (Prado *et al.*, 2000). L'accumulation du saccharose et du glucose est observée chez plusieurs espèces soumises à des concentrations élevées de NaCl. Chez *Chenopodium quinoa* par exemple, les teneurs en sucres totaux, en saccharose et en glucose sont respectivement de 265, 75, et 107  $\mu\text{moles/g}$  poids sec (Ruffino *et al.*, 2010).

### II.6- Régulation de la croissance

Ils été démontré que les réponses physiologiques à divers stress tels que la sécheresse ou la salinité, ont des caractéristiques similaires. Ils provoquent toute une augmentation de la concentration en ABA dans la partie aérienne ou une réduction de concentrations en cytokinine (Itai, 1999).

D'après Zhu (2001), la réduction de la croissance est une capacité adaptative nécessaire à la survie d'une plante exposée à un stress abiotique .En effet ce retard de développement permet à la plante d'accumuler de l'énergie et des ressources pour limiter les effets du stress avant que le déséquilibre entre l'intérieur et l'extérieur de l'organisme n'augmente jusqu'à un seuil où les dommages sont irréversibles. Pour illustrer cette tendance, dans la nature, la croissance est inversement corrélée à la résistance au stress salin d'une espèce ou variété (Zhu, 2001). En plus du contrôle de la croissance par les signaux hormonaux, la réduction de la croissance résulte de la dépense de ressources dans les stratégies d'adaptation.

### II.7- Contrôle membranaire

L'adaptation au stress salin se met en place également au niveau des membranes cellulaires (membrane plasmique, tonoplaste). La modification qualitative et quantitative des aquaporines (protéines trans-membranaires) est par exemple un processus capable de modifier la conductivité hydrique de la plante et de favoriser de restreindre les mouvements d'eau (Yeo, 1998). En termes de transport ionique, la stratégie de résistance à la salinité est qualitative et quantitative. La sélectivité des ions à l'entrée constitue la composante qualitative qui se définit à partir des différents transporteurs membranaires récents (antiports  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ ). Dans la diffusion facilitée comme dans le transport actif, les protéines membranaires peuvent être très spécifiques de certains solutés. Néanmoins, plusieurs

solutés peuvent entrer en compétition pour une même protéine de transport ( $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$ ). D'un point de vue quantitative, la perméabilité membranaire au  $\text{Na}^+$  ainsi que l'activité, la quantité, la sensibilité des antiports  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  membranaire évoluent pour s'adapter à un stress sodique à long terme (Niu *et al.*, 1995 ; Terman et Skerrett, 1999).

## **Chapitre III**

# **Généralité sur la plante fève vicia faba L**

### Introduction

D'après (Gepts *et al.* 2005), la famille des légumineuses est subdivisée en trois sous-familles : *Caesalpinieae*, *Mimosoideae* et *Papilionoideae* ou *Faboideae*, cette dernière inclut les légumineuses à graines dont *Vicia faba* L.

La fève est une culture très appréciée par les agriculteurs car elle constitue une source importante de protéines aussi bien pour l'alimentation humaine qu'animale et permet une économie de la fertilisation azotée (Dridi *et al.* 2011).

#### III.1- Origine et répartition géographique

Selon Mathon (1985), la fève *V. faba* L. est une plante cultivée par l'Homme depuis le Néolithique (7000 ans avant J.C), elle est originaire des régions méditerranéennes du Moyen-Orient.

Selon Péron (2006), la fève, le pois et la lentille sont les plus vieilles espèces légumières introduites en agriculture (10.000 ans). Cette plante figure parmi les légumes les plus anciennement cultivés, elle est citée comme étant d'un usage fréquent pour les offrandes funéraires (Laumonier, 1979).

À partir de son centre d'origine, la fève s'est propagée vers l'Europe, le long du Nil, jusqu'en Ethiopie et de la Mésopotamie vers l'Inde. L'Afghanistan et l'Ethiopie deviennent par la suite, les centres secondaires de dispersion (Cubero, 1974).

#### III.2- Classification botanique

D'après Anonyme (1985) et Dajoz (2000), la fève est classée comme suit :

- **Embranchement** : Spermaphytes
- **Sous-embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Sous-classe** : Dialypétales
- **Série** : Caliciflores
- **Ordre** : Rosales
- **Famille** : *Fabacées* (Légumineuses)
- **Sous-famille** : *Papilionacées*
- **Genre** : *Vicia*
- **Espèce** : *Vicia faba* L.

Il en existe deux sous-espèces, *paucijuga* et *eu-faba*. Dans la sous-espèce *eu-faba* qui nous intéresse, on dénombre trois variétés différentes (**Gallais et bannerot,1992**).

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

### III.3- Caractéristique morphologique de la fève

La fève est une plante diploïde ( $2n= 12$ ) et partiellement allogame (**Wang et al. 2012**) elle est formée d'un appareil végétatif et d'un appareil reproducteur. L'appareil végétatif comprend : les racines, la tige et les feuille quant à son appareil reproducteur, il est formé par les fleurs qui sont à l'origine des fruits et des graines.

#### III.3.1- Racines

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

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

#### III.3.2- Tige

La tige est simple, dressé, creuse, de section quadrangulaire, sa hauteur est généralement comprise entre 0,80 à 1,20 m (**Chaux et founy, 1994**). La tige est pourvue d'un ou plusieurs rameaux à la base et présente un type de croissance indéterminé (**Duc, 1997 ; Brink et Blay, 2006**).

#### III.3.3- Feuilles

Les feuilles sont alternes, composées-pennées, constituées par deux (02) à quatre (04) paires de folioles ovales, mucronées, sans vrille, de couleur vert glauque au grisâtre. Les stipules bien visibles en forme dentées (**Chaux et Foury, 1994**).

#### III.3.4- Fleurs

Les fleurs sont de type papilionacé, de deux (02) à trois (03) cm de long, de couleur blanche, marron ou violette et portent sur chaque aile une macule noire ou marron (**Dac, 1997**).

L'inflorescence est en grappe axillaire d'une (01) à six (06) fleurs. Les fleurs sont constituées d'un calice à cinq (05) sépales, d'une corolle blanche à cinq (05) pétales (carène, ailes et étendard), de 10 étamines dont neuf (09) sont soudées et une (01) libre. L'ovaire est supère et sessile avec deux (02) à quatre (04) ovules allant parfois jusqu'à neuf (09). La floraison débute en moyenne au niveau du 7<sup>ème</sup> nœud et continue jusqu'aux 20 nœuds suivants (**Brink et Belay, 2006**).

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

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

### III.3.5- Fruits

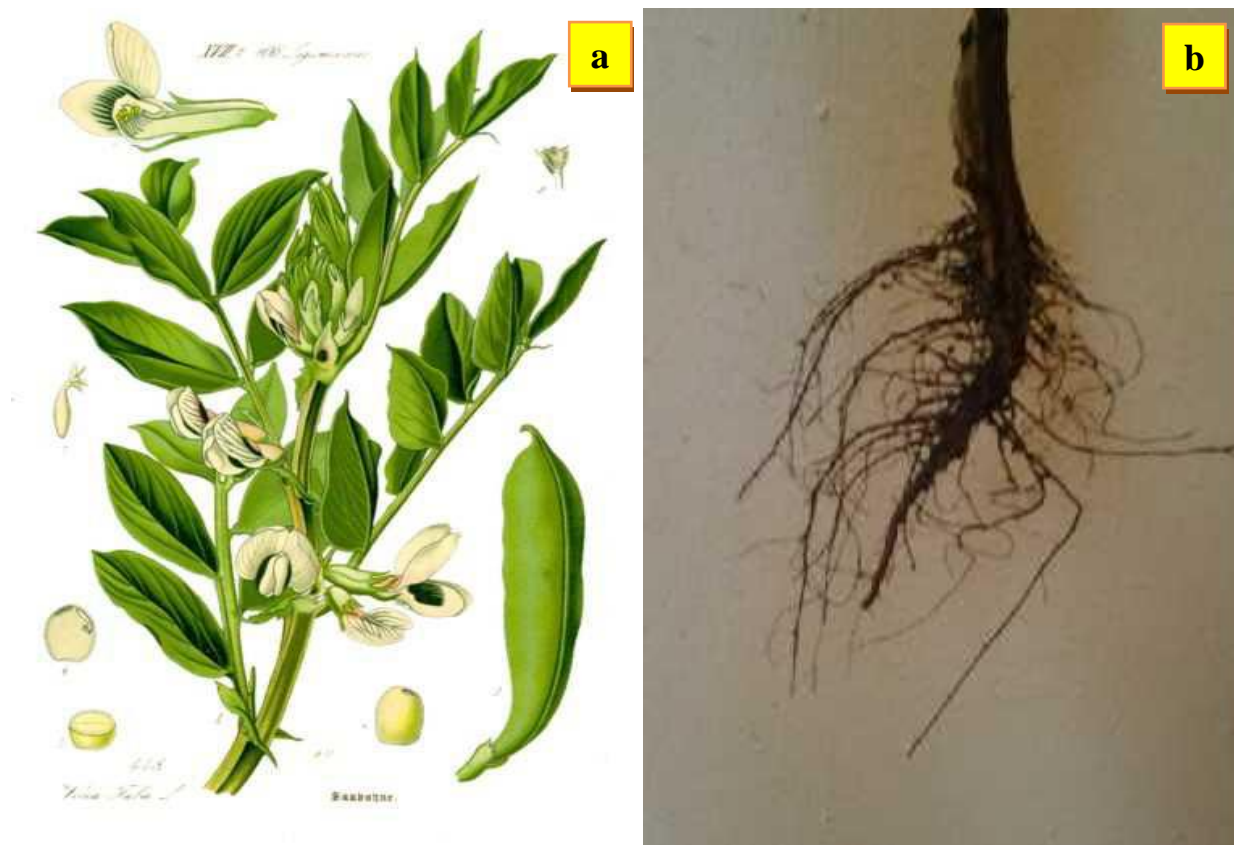
Les fruits sont des gousses charnues qui peuvent avoir de 10 à 20 cm de long selon les variétés et contenir un nombre variable de graines (4 à 9). A l'état jeune, les gousses sont de couleur verte puis noircissent à maturité (**Chaux et Foury, 1994**). Les gousses sont pourvues d'un bec et elles sont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

### III.3.6- Graines

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

Les graines possèdent un hile clair ou de couleur noire parfois entouré de taches de couleur marron (**Duc, 1997**).

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



**Photo 01** : Les différentes parties de la fève *Vicia faba* L. (**Thomé 1885**).

**a** : Système caulinaires. **b** : Système racinaires.

#### III.4- Cycle biologique :

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

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

#### III.5- Différentes variétés de la fève (*V. faba*) présentes en Algérie

Il existe quatre variétés de fèves, et la féverole en Algérie, qui sont:

##### III.5.1- Séville

C'est une variété précoce à gosses longues, renferment cinq (05) à six (06) grains volumineux. Sa tige est d'une hauteur de 70 cm, se distinguant des autres variétés par la couleur de son feuillage, d'un vert assez franc (**Chaux et Foury, 1994**). Ses gosses présentent une largeur d'environ 3 cm et une longueur de 25 cm (**Laumonier, 1979**).

### III.5.2- Aguadulce

C'est une variété demie précoce, très répandue en culture. Elle est caractérisée par une plante, de végétation haute de 1,10 à 1,20 m. Elle possède des gousses de couleur vert franc, volumineuse et très longue, pouvant atteindre 20 à 25 cm renfermant sept (07) à neuf (09) graines. C'est une variété très productive (**Chaux et Foury, 1994**). Elle est introduite, avec la Séville d'Espagne (**Zaghouane, 1991**).

### III.5.3- Muchaniel

C'est une variété très précoce, elle a des gousses de couleur vert clair, de 20 cm de longueur en moyenne, renfermant cinq (05) à (06) grains blancs, elle est très productive (**Chaux et Foury, 1994**).

### III.5.4- Sidi Moussa

Elle est sélectionnée à El-Harrach en 1965, elle est convenable à tous les sols, résiste aux maladies cryptogamiques (*Botrytis*), aux insectes (*Aphis fabae*), aux plantes parasites (*Orobanche sp*) et aux nématodes (**Zaghouane, 1991**).

### III.5.5- Féverole :

Cette culture a été sélectionnée par l'Homme au Proche Orient ou en Afrique (**Anonyme, 2007**). Elle possède un système racinaire très repoussant et structurant, et de surcroît l'une des plus performantes, en matière de fixation de l'azote (**Thomas, 2008**).

Selon (**Lebreton et al. 2009**), la féverole n'est pas sensible à l'*Aphanomyces* du pois, de plus les limaces sont très peu friandes de féverole, voir les repoussent et préfèrent les autres plantes, ce qui en fait une plante assez facile à installer et à réussir (**Thomas, 2008**). En Algérie, la seule variété de féverole cultivée est « Sidi Aich » (**Zaghouane, 1991**).

## III.6- Exigences de la culture de fève

### III.6.1- Exigences pédologiques

#### III.6.1.1- Eau

L'espèce est très exigeante en humidité du sol surtout pendant les périodes initiales de son développement. Les phases de floraison et de développement des gousses présentent une sensibilité élevée vis-à-vis d'un stress hydrique, raison pour laquelle il faut intervenir par arrosage ou irrigation en cas de faibles précipitations (**Chaux et Foury, 1994**).

#### III.6.1.2- Sol

Selon **Chaux et Foury (1994)**, la fève ne présente pas d'exigence spécifique au regard de la nature des sols. Cependant, la préférence est donnée au sol sablo-argileux

humifiè (Peron, 2006), et un pH neutre à légèrement alcalin (7-8,3). D'après Marcel(2002), la fève croit mieux sur des sols à texture plus lourde, mais craint les sols légers (risque de sécheresse).

### III.6.2- Exigences climatiques

#### III.6.2.1- Température

La fève supporte les faibles gelées ne dépassant pas  $-3^{\circ}\text{C}$ . Les températures supérieures à  $23^{\circ}\text{C}$  sont néfastes pour la fève, elles provoquent la chute prématurée des fleurs, stimulent le développement de maladies virale et fongique et rend la plante susceptible a l'attaque des insectes ravageurs (Chaux et Foury, 1994), une température moyenne aux alentours de  $13^{\circ}\text{C}$  est optimale pour la croissance de la fève (Zerihun, 2006).

#### III.6.2.2-Lumière

D'après Laumonier (1979), la fève se comporte comme une plante de jour long qui se traduit par une exigence importante en luminosité.

### III.6.3. Exigences agronomiques

#### III.6.3.1-Préparation du sol

Afin d'assurer à la plante une bonne autonomie vis- à-vis de ses besoins en eau, et en raison de son enracinement pivotant, un labour profond est conseillè (Chaux et Foury, 1994).

#### III.6.3.2- Semis

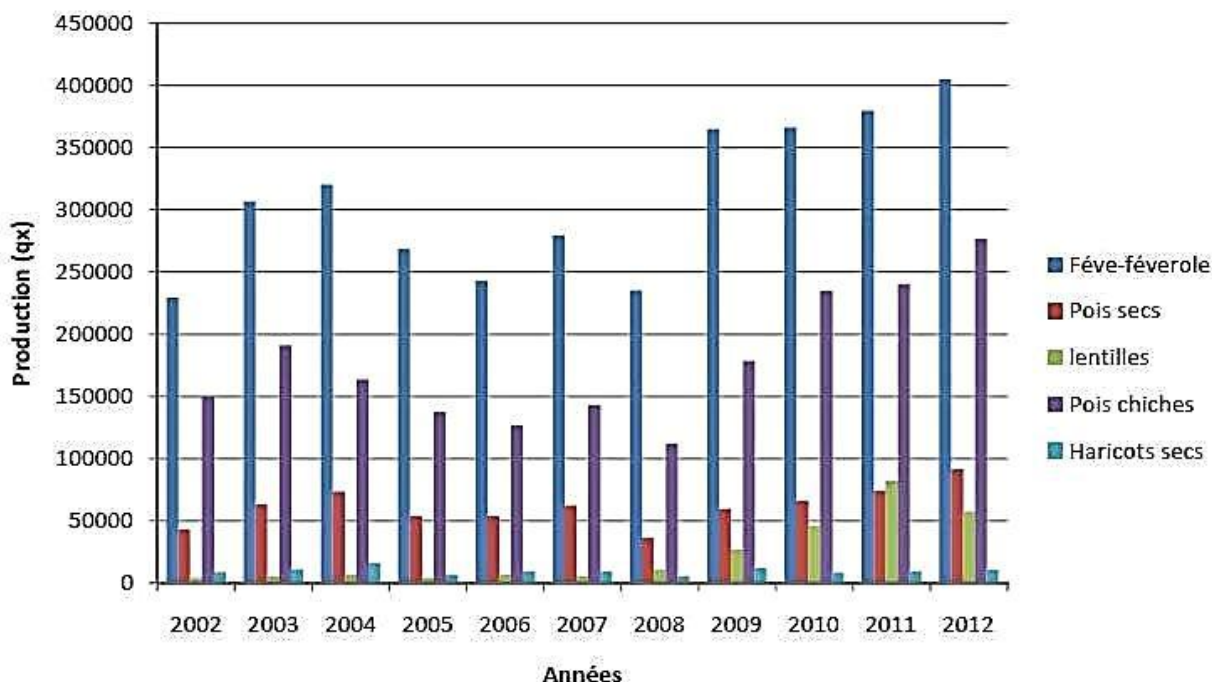
Selon Laumonier (1979), le semis dépend des régions et des variétés, il peut s'effectuer à partir du mois d'octobre jusqu'a la fin du mois de Février et début du mois de Mars. En Algérie, le semis est réalise au mois de Novembre afin d'éviter la sécheresse printanière.

### III.7- Intérêts de la fève

L'utilité de la fève dans l'alimentation humaine et animale comme source de protéines ainsi que leur effet bénéfique sur la fertilité des sols sont largement reconnus ; L'utilisation de la fève est principalement orientée vers la consommation humaine en gousses fraîche à grande proportion et sous forme de graines secs ou au stade pâteux à faible proportion. Lors d'abondance le surplus des graines de fève incorporé dans la composition d'aliments du bétail (Maatougui, 1997).

La féverole, en revanche, lorsqu'elle est disponible, est strictement utilisée pour l'alimentation du bétail en graines concassées destinées aux bovins surtout pour l'engraissement. La fève peut être aussi utilisée en engrais vert dans les vergers

(Maatougui, 1996). Pour sa valeur alimentaire; La fève est considérée parmi les cultures les plus riches en matières nutritives.



**Figure 02 :** Evaluation des productions (qx) de la fève par rapport aux autres légumineuses alimentaires en Algérie de 2002 à 2012 (Anonyme, 2013)

### III.7.1- Intérêts agronomique

L'espèce *Vicia faba* comme toutes les légumineuses alimentaires, contribue à l'enrichissement du sol en éléments fertilisants, dont l'incidence est positive sur les performances des cultures qui les suivent, notamment le blé (Khaldi *et al.*, 2002). En plus de son intérêt nutritionnel, elle est introduite en rotation avec les céréales, où elle joue un rôle non négligeable dans l'enrichissement du sol en azote (Rachef *et al.*, 2005).

Selon Hamadache (2003), la fève améliore la teneur du sol en azote, avec un apport annuel de 20 à 40 kg/ha ; elle améliore aussi sa structure par son système racinaire puissant et dense. Les résidus des récoltes enrichissent le sol en matière organique.

### III.7.2- Intérêts économiques

La fève (*Vicia faba* L.) est la principale légumineuse alimentaire cultivée en Algérie (Inra, 2007). Elle constitue une importante ressource socio-économique.

La culture de la fève et la fèverole en Algérie n'ont pas encore bénéficiées de toute l'attention nécessaire devant assurer leur développement et continuent d'être marginalisées à tel point que des régressions importantes en superficies ont été enregistrées depuis 1987.

D'autre part, la productivité et la production (faible) n'ont pas connu d'amélioration ce qui a engendré le recours aux importations pour satisfaire la consommation qui elle a nettement augmentée (**Maatougui, 1997**). **Tableau**

Sa culture est pratiquée essentiellement au niveau des plaines côtières et de l'intérieur et dans les zones sahariennes. En Algérie, la fève est retenue surtout pour la consommation humaine sous forme de gousses fraîches, ou en grains secs. En cas de fortes productions, l'excédent en grains secs peut être incorporé dans l'alimentation du bétail (**Maatougui, 1996**).

**Tableau 10:** évaluation de la superficie et production de la fève et féverole en Algérie (**Anonyme, 2009**).

Compagne agricole	Superficie (ha)	Production (qx)	Rendement (qx/ha)
1999-2000	34250	128950	3.8
2000-2001	31450	212300	6.8
2001-2002	33610	229330	6.8
2002-2003	34050	307000	9.0
2003-2004	36777	320530	8.7
2004-2005	35082	268860	7.7
2005-2006	33537	242986	7.2
2006-2007	31284	279735	8.9
2007-2008	30688	235210	7.7
2008-2009	32278	364949	11.3
Moyenne	33300.6	258985	7.79

### III.7.3- Intérêt écotoxicologique

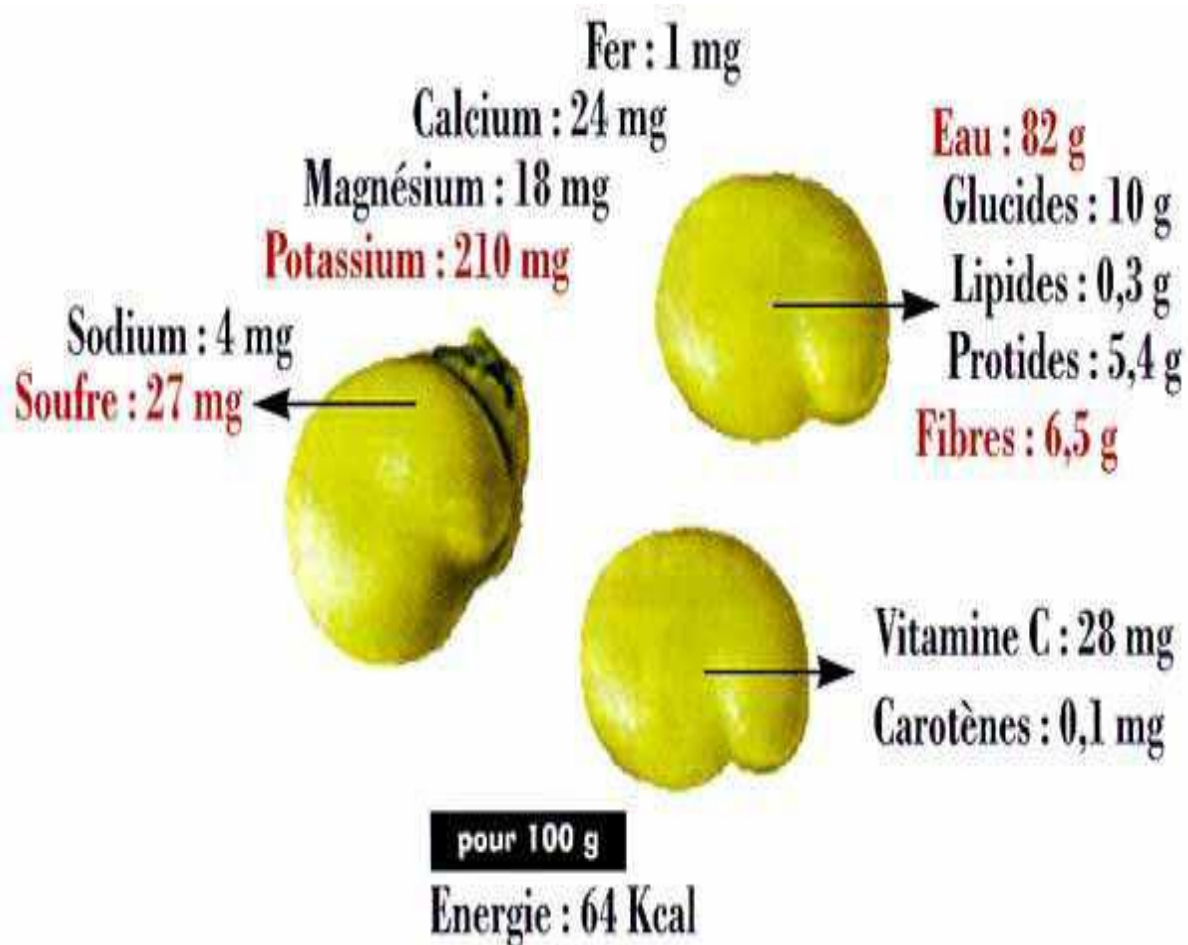
La fève est très sensible à la pollution du sol, ce qui en fait un modèle végétal très utilisé en écotoxicologie dans un grand nombre d'études. La simplicité de son caryotype l'a faite élire pour un grand nombre d'études de mutagenèse par le test des aberrations chromosomiques (**De Marco et al., 1995 ; Kanaya et al., 1994 ; Sang et 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 et 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 et 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**).

#### **III.7.4- Intérêt alimentaire**

La fève est l'une des légumineuses à graines utilisée pour la consommation humaine et animale (**Goyoaga et al., 2011**). Elle constitue un aliment nutritif très important surtout pour les populations à faible revenus, qui ne peuvent pas toujours s'approvisionner en protéine d'origine animale (**Daoui, 2007**).

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 (**Fig03.** ).



**Figure 03** : Apport calorifique de 100 g de la fève verte d'*Aguadulce* (Victor le jardinier, 2000).

# **Partie II**

## **Matériel et méthode**

### 1. Objectif de l'étude

L'objectif de ce travail porté sur l'effet toxique de l'interaction entre la salinité et les métaux lourds ; le cas de cuivre et zinc sur les paramètres de la *Vicia faba* L. :

- **Paramètres morphologiques** : Nombre des feuilles, hauteur de la tige et longueur des racines ;
- **Paramètres physiologiques** : Teneur relatives en eau des feuilles (RWC) ;
- **Paramètres biochimiques** : Proline (PRLN), sucres solubles (SS), concentration en pigment (Chlr.A, Chlr.B, Chlr.A+B, CRTN) et taux de protéines totales.

### 2. Lieu de l'expérimentation

L'expérimentation est réalisée en conditions non contrôlées dans une serre vitrée à la ferme expérimentale de l'université de Mostaganem située à la commune de Mazagran wilaya de Mostaganem.

Les coordonnées géographiques de la serre sont : (x : 35°53'31.9''N ; y : 0°5'7.4''E ; alt.: 132 m).

**Tableau 11:** Coordonnées géographiques du site de la serre expérimentale.

Repère géographique	Mazagran
Latitude	35°53'31.9''N
Longitude	0°5'7.4''E

La température moyenne sous la serre est de 28°C durant la période de l'expérimentation (du 13/11/2017 jusqu'au 28/01/2018).



**Photo 02:** Site expérimental (novembre 2018).

### **3.Choix de l'espèce végétale**

La fève (*Vicia faba* L.), de la famille des *Fabaceae*, la variété est Aguadulce espagnole a été choisie en raison de son utilisation au laboratoire comme plante modèle pour des études de toxicologie de différents polluants (**Loudes, 2002; Pourrut, 2003; El Hajjouji et al., 2007; Marcato, 2007; Cecchi, 2008**). De plus, l'utilisation de *Vicia faba* présente de nombreux intérêts: croissance rapide, biomasse importante et sensibilité aux métaux.



**Photo 03:** Les graines *Vicia faba* L.

## 4. Méthode

### 4.1. Préparation des graines

Les graines de *Vicia faba* L. de la variété (Aguadulce) sont préalablement triées, celle d'apparence saines et de même taille. Les graines sont ensuite stérilisées dans l'eau de javel durant 05 min puis rincées abondamment avec de l'eau distillée pendant 1 min.

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

### 4.2. Préparation du substrat de culture

Le substrat utilisé correspond à un mélange de sable et du terreau industriel à raison de (2v/1v). Le sable est récupéré au bord d'une plage Abdelmalek Ramdane (ex-Ouillis), située 30 km à l'Est de wilaya de Mostaganem, ayant subi une déminéralisation qui a été faite comme suite:

- 1- Tamisage avec un tamis de 2 mm de diamètre pour obtenir un sable fin ;
- 2- Lavage à l'eau de robinet ;
- 3- Trempage dans une solution de HCl dilué au 1/5 dans l'eau distillée ;
- 4- Lavage plusieurs fois à l'eau distillée ;

- 5- Séchage à l'air libre ;
- 6- Désalinisation du sable, en utilisant le nitrate d'argent.

### 4.3. Préparation des pots

Les pots utilisés de diamètre 20 cm et de 30 cm de hauteur, de poids 3 kg. Chaque pot a été rempli d'une couche de gravier afin d'assurer un bon drainage, sur cette couche est déposée une bande à gaz pour retenir le substrat.

### 4.4. Semis

L'expérimentation a été menée dans une serre non contrôlée. Les graines sont semées dans des plateaux alvéoles dans la tourbe à raison d'une plante/alvéole pendant une période de 20 jours pour assurer une bonne germination.



**Photo 04:** Plantule de *Vicia faba* L. cultivées en alvéole.

### 4.5. Repiquage

Le repiquage des plantules de fève *Vicia faba* L., a été effectué le 28 octobre 2017, dans des pots en plastique (30 cm d'hauteur et 20 cm de diamètre) à raison de d'une plante par pot. Les plantes sont conservées sous serre pendant une période de deux (02) mois. Durant toute la période de l'expérimentation une observation visuelle de la croissance a été effectuée.



**Photo 05** : Dispositif expérimental sous serre après le repiquage (28 Novembre 2018).

#### 4.6. Arrosage

L'irrigation est effectuée à l'eau distillée à la capacité de rétention qu'est déterminé par la différence entre la qualité d'eau apporté avant l'arrosage et celle récupéré après 24h de décantation (Méthode adoptée par le laboratoire) soit 250 ml le volume d'arrosage calculé.

**Pour la germination :** Trois fois par semaine avec l'eau distillée ;

**Pour la culture :** trois fois par semaine.

- Une fois avec solution nutritive (**Hoagland et Arnon, 1938**) diluée diluée au 1/1000<sup>ème</sup> couramment utilisé au laboratoire de physiologie végétale ;
- Deux fois avec l'eau distillée.

**Tableau 12:** Composition de la solution nutritive **Hoagland et Arnon (1938)**.

Produit	Composition	Poids en g/l
Nitrate de potassium	KNO <sub>3</sub>	191.90
Nitrate de calcium	(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Ca 4H <sub>2</sub> O	129.80
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	54.40
Di-potassium	PO <sub>4</sub> K <sub>2</sub> H 3H <sub>2</sub> O	34.23
Chlorure de manganèse	Cl <sub>2</sub> Mn 4H <sub>2</sub> O	1.80
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 ferrique	(C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> FeN <sub>2</sub> NaO <sub>8</sub> )	0.050

#### 4.7. Application du stress Salin-métallique

Les solutions de sulfate de cuivre (CuSO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O) à raison de (100, 300 et 500 ppm) additionné au chlorure de sodium NaCl (100 et 200 meq) et sulfate de Zinc (ZnSO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O) à raison de (300, 500 et 700 ppm) additionné au chlorure de sodium NaCl (100 et 200 meq) sont préparées et appliquées deux fois durant l'expérimentation. Les plantes témoins ne sont pas stressées. La culture est stressée au stade plantule, chaque traitement est répété quatre (04) fois.





















































R4													
R3													
R2													
R1													
répétition	témoins	100	100	100	200	200	200	100	100	100	200	200	200
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		300	500	700	300	500	700	100	300	500	100	300	500
NaCl (meq) + ZnSO <sub>4</sub> (ppm)							NaCl (meq) + CuSO <sub>4</sub> (ppm)						



Photo 06: Plantes de *Vicia faba* L. cultivées en pots (décembre 2018).

#### 4.8. Prélèvement des échantillons

Nous avons procédé au prélèvement 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.

### 5. Paramètres mesurés

#### 5.1. Paramètres biométriques

##### 5.1.a- Nombre des feuilles

Le nombre des feuilles de chaque plante a été déterminé avant l'application de traitement salin-métallique et après une et deux semaines de stress salin-métallique.

##### 5.1.b- Hauteur de tige (HT)

La hauteur de tige a été déterminée avant l'application de traitement salin et après une et deux semaines de stress salin-métallique. Exprimé en centimètres (cm). Ces mesures sont effectuées par règle graduée.

##### 5.1.c-Longueur racinaire (LR)

La longueur des racines est mesurée après déterrement et exprimée en centimètres (cm).

#### 5.2. Paramètres physiologiques

##### 5.2.1 Teneur relative en eau (RWC)

La teneur relative en eau (RWC) est déterminée selon la méthode de (**Barrs et Weatherley, 1968**). Le limbe foliaire coupé à sa base, est immédiatement pesé pour déterminer le poids frais (PF). Les feuilles sont ensuite placées dans un tube à essai contenant de l'eau distillée, puis maintenu à l'obscurité à 4°C pendant 12 heures. Ces feuilles sont récupérées et essuyées délicatement avec un papier buvard et pesées à nouveau pour déterminer le poids en pleine turgescence (Ppt).

Le poids sec (PS) est déterminé après passage des feuilles dans une étuve pendant 48 heures à 80°C. La teneur relative en eau est calculée par la formule suivante proposée par **Barrs et Weatherley (1962)**, adoptée plus tard par (**Scippa et al., 2004**).

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

### 5.3. Paramètres biochimiques

#### 5.3.1. Proline (PRLN) ( $\mu\text{g/g MF}$ )

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)**, qui 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 min. 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. L'absorbance est lue au Spectrophotomètre UV à une longueur d'onde de 528 nm.

#### 5.3.2. Sucres solubles (SS) ( $\mu\text{g/g MF}$ ) :

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode de (**Dubois *et al.*, 1956**). Elle consiste à prendre 100 mg de matériel végétal, dans des tubes à essai, on ajoute 3 ml d'éthanol à 80% pour faire l'extraction des sucres, puis on laisse à température ambiante pendant 48 heures. Au moment du dosage les tubes sont placés dans l'étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool. Dans des tubes en verre propres, on met 2 ml de la solution à analyser, on ajoute 1 ml de phénol à 5% ; on ajoute rapidement 5 ml d'acide sulfurique concentré 96% ( $d = 1,86$ ) tout en évitant de verser de l'acide contre les parois de tube. On obtient, une solution jaune orange à la surface, on passe au vortex pour homogénéiser la couleur de la solution. On laisse les tubes pendant 10 min et on les place au bain-marie pour 10 à 20 min à une température de 30°C. A ce moment là l'absorbance est lue à une longueur d'onde de 485 nm.

#### 5.3.3. Concentration en pigment (Chlr.a, Chlr.b, Chlr.a+b, CRTN) :

Les teneurs en chlorophylle a, b et totale (mg/g PF) ont été déterminées selon la méthode légèrement modifiée de la méthode de **Torrecillas *et al.* (1984)**. Des feuilles d'environ 200 mg de poids frais sont pesées et mises dans 5 ml d'acétone concentrée (80%). Après un séjour de 72 heures à l'obscurité à une température de 4°C.

Les équations suivantes sont utilisées pour calculer les concentrations des chlorophylles et les caroténoïdes dans les feuilles (en mg/g MF) :

- $\text{Chlr.a} = 12,25 \times A663 - 2,79 \times A645$
- $\text{Chlr.b} = 21,50 \times A645 - 5,10 \times A663$
- $\text{Chlr.a+b} = 7,50 \times A663 + 18,71 \times A645$
- $\text{CRTN} = (1000 \times A470 - 1,82 \times \text{Chlr.A} - 85,02 \times \text{Chlr.B})/198$  (Wang *et al.*, 2010).

#### **5.3.4. Taux de protéines totales**

La méthode retenue pour le dosage des protéines totales est celle de **Bradford (1976)**, qui utilise la BSA (Sérum d'Albumine de Bovin) comme standard. Elle consiste à prendre 10 mg du matériel végétal, chaque échantillon est broyé avec 5ml d'eau distillée puis filtré et versé dans un tube à essai contenant 5ml d'eau distillée. Pour le dosage on prend 0.2ml de réactif Bradford avec 0.2 ml de la solution à analyser et 1.6ml d'eau distillée (bien agiter au vortex). Parallèlement, il est préparé un essai de contrôle en utilisant 0.2ml d'eau distillée; après 5min à une heure on procède à la lecture de l'absorbance à 595nm.

#### **6. Analyses statistiques**

Tous les résultats obtenus ont été soumis à une analyse de variance (ANOVA) par le test NEWMAN-KEULS au seuil de 5% réalisée sur le logiciel STAT-BOX, version "4.6". Le logiciel EXCEL a été utilisé en vue de calcul de la moyenne et de l'écart-type pour l'établissement des graphes.

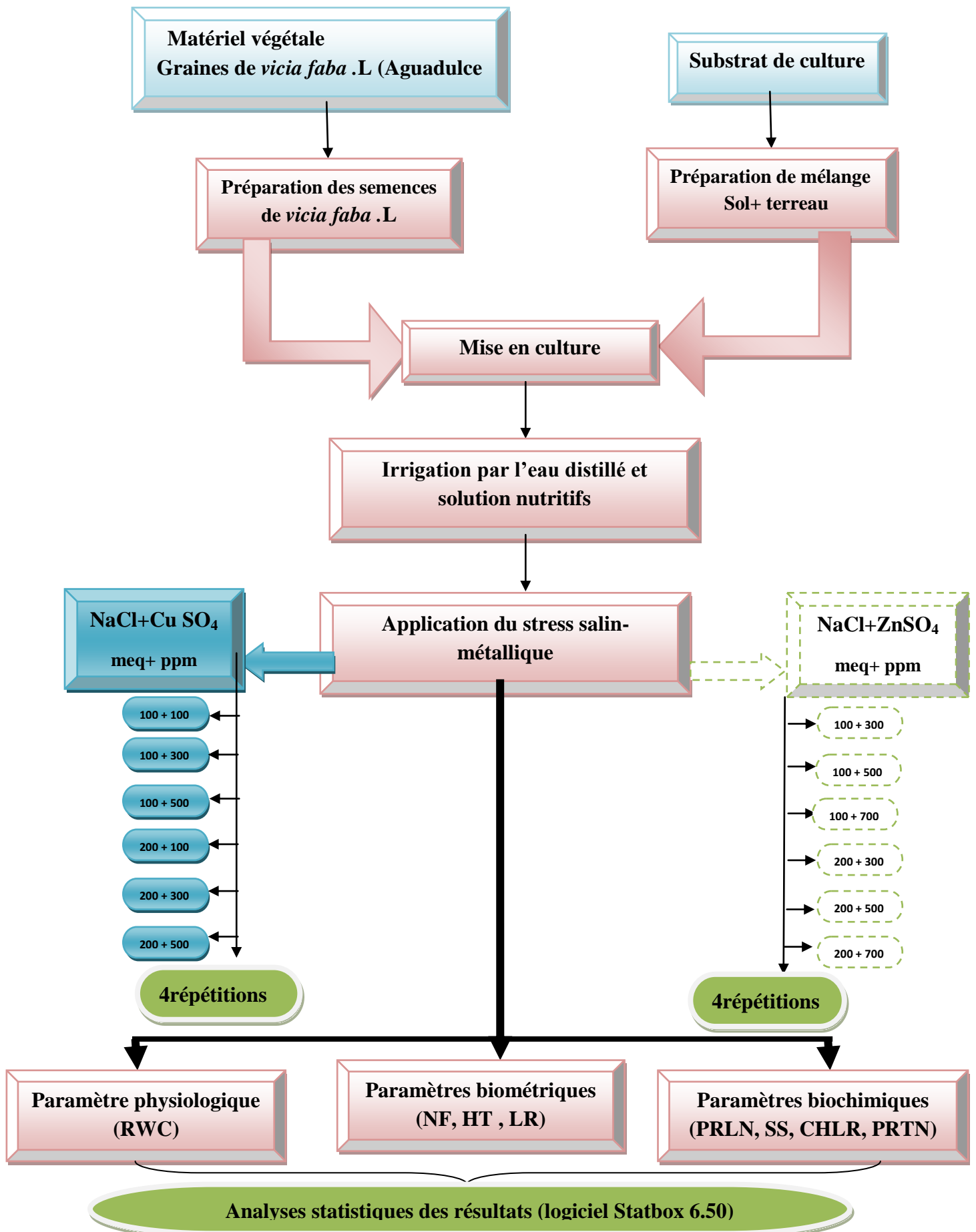


Figure 04 : Organigramme montrant le protocole expérimental adopté de la culture *Vicia faba* L.

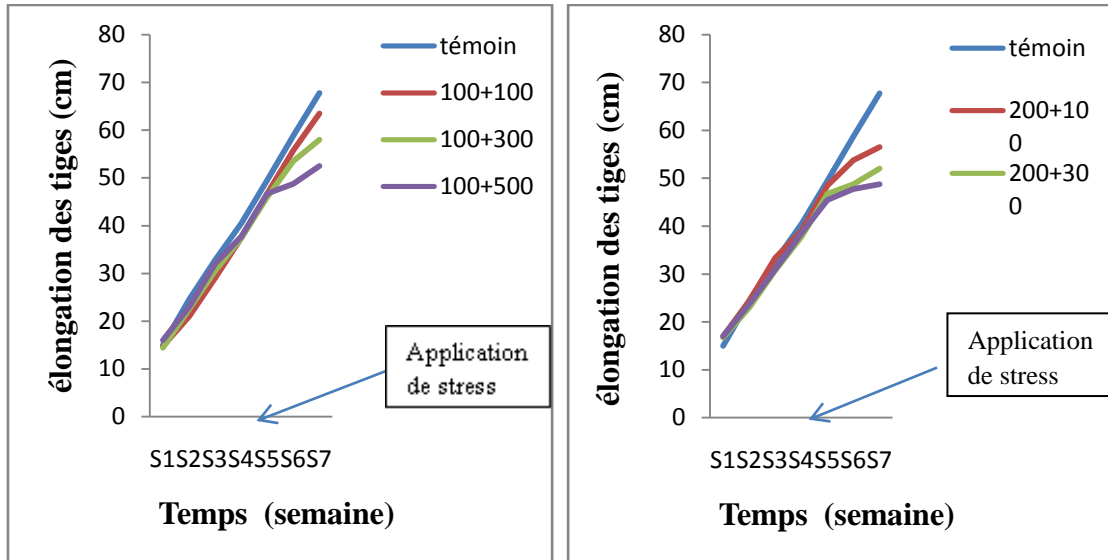
# **Partie III**

## **Résultats et discussions**

## 1. Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl+ CuSO<sub>4</sub>)

### 1.1- Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl+ CuSO<sub>4</sub>) sur les paramètres morphologiques

#### 1.1.1- Longueur des tiges

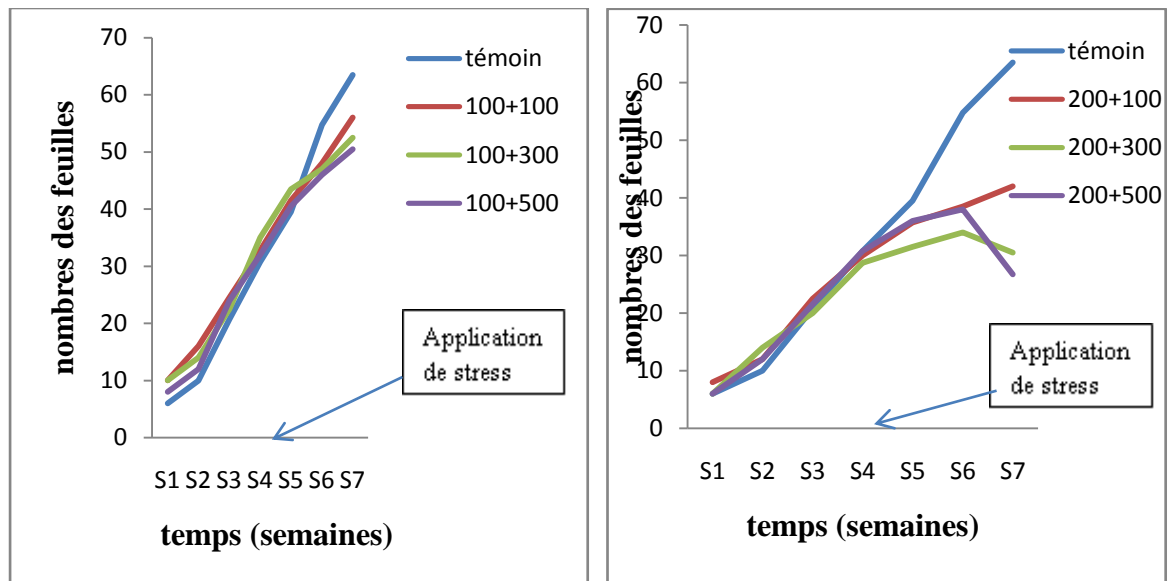


**Figure 05:** Effet combiné de la salinité et du cuivre sur la hauteur de tige chez la fève *Vicia faba* L.

Les résultats obtenus montrent que la longueur des tiges sous l'effet combiné de (NaCl+ CuSO<sub>4</sub>) n'a pas enregistré un effet dans les quatre premières semaines, tandis qu'on observe une diminution remarquable par rapport au témoin à partir de 6<sup>ème</sup> semaines.

La longueur des tiges chez les plantes stressées au cuivre additionnée avec 200 meq de NaCl est plus affectée par rapport aux plantes stressées au cuivre additionné avec 100 meq de NaCl.

## 1.1.2 Nombres des feuilles

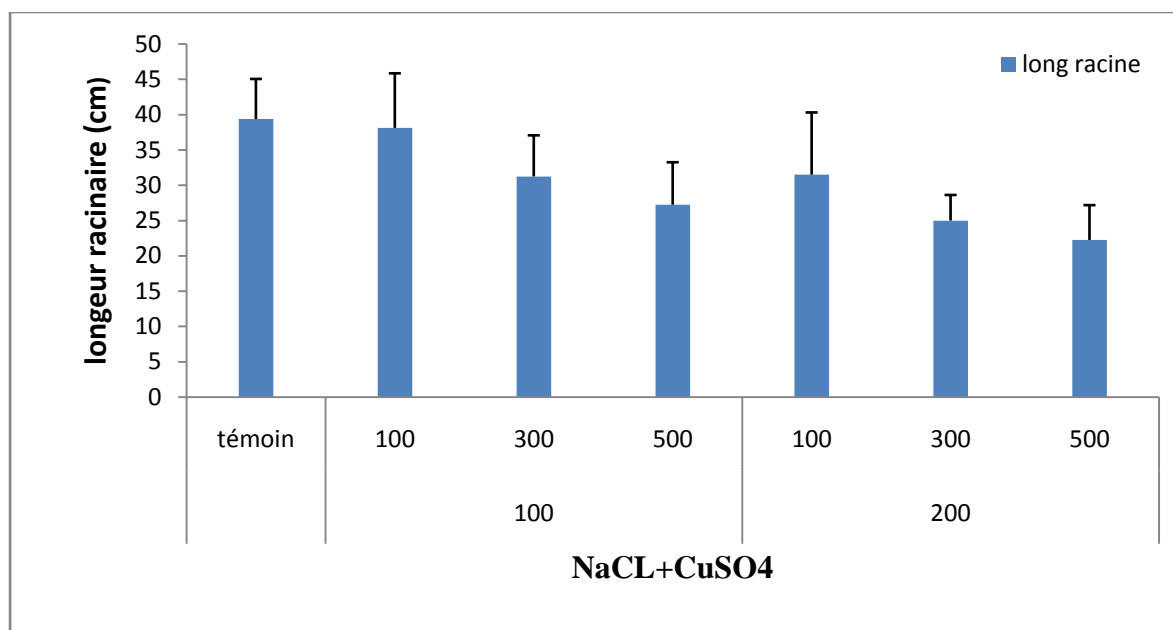


**Figure 06 :** Effet combiné de la salinité et du cuivre sur le nombre des feuilles chez la fève *Vicia faba* L.

Les résultats obtenus montrent que le nombre des feuilles sous la présence de (NaCl+ CuSO<sub>4</sub>) n'a pas enregistré un effet dans les quatre premières semaines, tandis qu'on observe une diminution remarquable par rapport au témoin à partir de 6<sup>ème</sup> semaines.

Le nombre des feuilles chez les plantes stressées au cuivre additionnée avec 200 meq NaCl plus affecté par rapport les plantes stressées au cuivre additionnée avec 100 meq de NaCl

## 1.1.3 Longueur racinaire



**Figure 07:** Effet combiné de la salinité et du cuivre sur la longueur racinaire chez la fève *Vicia faba* L.

Selon la figure on note que longueur racinaire chez les plantes stressées par le traitement NaCl+CuSO<sub>4</sub> avec les doses : 100+100, 100+300, 100+500, 200+100, 200+300 et 200+500), enregistre une diminution inversement proportionnelles avec les doses de NaCl+CuSO<sub>4</sub> dans le milieu. Comparativement aux plantes témoin.

Les plantes stressées au cuivre additionné avec de 200 meq NaCl, sont plus affectées par rapport aux plantes stressées au cuivre additionnée avec 100 meq NaCl. Tandis que la valeur la plus faible (22,25±4,931) est marquée par la dose la plus forte (200+500).

**Tableau 13 :** Résultats moyens de la longueur racinaire de *Vicia faba* L. en fonction des doses de cuivre et de chlorure de sodium.

Dose	témoin	100			200		
		100	300	500	100	300	500
Longueur racinaire	39,375	38,125	31,25	27,25	31,5	25	22,25
	±	±	±	±	±	±	±
	5,680	7,732	5,821	6,007	8,182	3,621	4,931

L'analyse statistique représente un effet hautement significatif de la longueur racinaire par rapport aux plantes témoins à PROB=0.

**Discussion**

Ces résultats démontrent que l'application du cuivre avec le chlorure de sodium réduit nettement la morphogénèse des deux parties de la plante (caulinaire et racinaire).

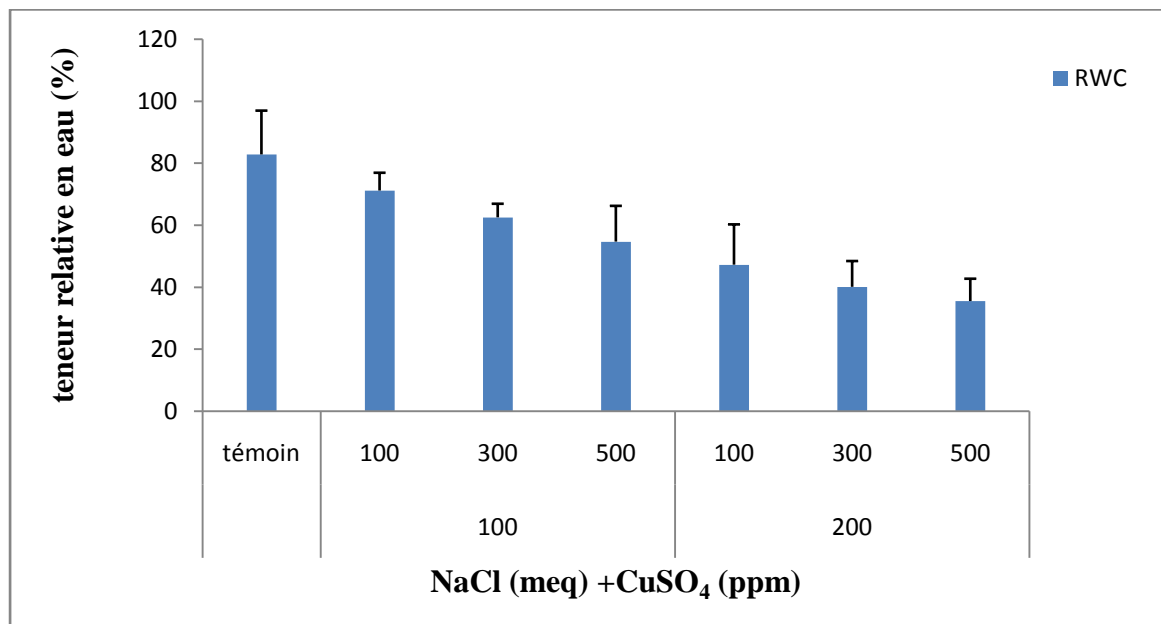
Dans notre expérimentation, on a remarqué une nette diminution de la production de la biomasse, qui est un signe visible de la toxicité du ( $\text{CuSO}_4+\text{NaCl}$ ) en particulier. L'exposition des plantes de la fève *Vicia faba* L. aux différents traitements ( $\text{CuSO}_4+\text{NaCl}$ ) a causé des diminutions notables des paramètres biométriques, surtout quand on mélange les différents traitements de cuivre avec 200 meq de chlorure de sodium.

De nombreux travaux font état d'une inhibition de la croissance et de la réduction d'élongation des tiges et longueur racinaire, après exposition par le cuivre qui est un micro élément essentiel, et qui joue un rôle vital dans le maintien de métabolisme normal des plantes supérieures. Cependant, le cuivre à des niveaux élevés devient fortement phytotoxique pour les cellules et cause l'inhibition de la croissance des plantes ou encore la mort (**Mocquot *et al.*, 1996; Weckx et Clijsters, 1996; Chen *et al.*, 2000**).

Un apport élevé en Cu usuellement inhibe la croissance des racines avant d'affecter la production de la biomasse aérienne (**Lexmond et Vorm, 1981**). Cependant, il ne signifie pas nécessairement que les racines sont plus sensibles à des concentrations élevées du cuivre, mais probablement, due à la réalité que les racines sont dans un environnement où le cuivre est en excès.

## 1.2- Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl+CuSO<sub>4</sub>) sur les paramètres physiologiques

### 1.2.1- Teneur Relative en Eau (RWC)



**Figure 08 :** Effet combiné de la salinité et du cuivre sur la teneur relative en eau chez la fève *Vicia faba* L.

La figure montre que les plantes de la fève *Vicia faba* L. stressés par CuSO<sub>4</sub> + NaCl sous les doses :100+200, 100+300, 100+500, 200+100, 200+300 et 200+500, présentent une diminution de la teneur relative en eau de leurs feuilles par rapport aux témoins.

Les plantes stressées au cuivre additionné avec 200 meq de NaCl, sont plus affectées par rapport aux plantes stressées au cuivre additionnée avec 100 meq de NaCl.

Tandis que la valeur la plus faible ( $35,481 \pm 1,815$ ) est marquée par la dose la plus forte de (200+500).

**Tableau 13** : Résultats moyens de la Teneur relative en eau (RWC) de *Vicia faba* L. en fonction des doses de cuivre et de chlorure de sodium.

Dose	témoin	100			200		
		100	300	500	100	300	500
Teneur relative en eau (RWC)	82,782	71,145	62,486	54,67	47,223	40,086	35,481
	±	±	±	±	±	±	±
	14,121	5,729	4,392	11,521	13,004	8,319	7,217

L'analyse statistique représente un effet hautement significatif de la teneur relative en eau (RWC) par rapport aux plantes témoins avec  $PROB=0$ .

### Discussion

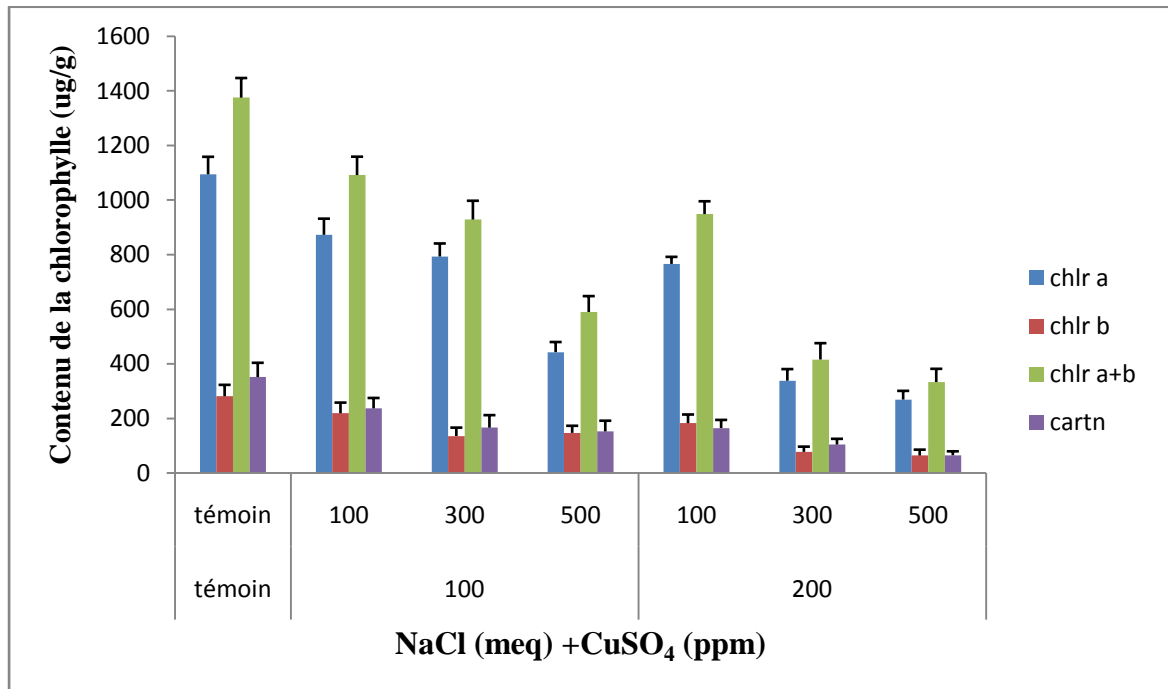
Selon les résultats mentionnés dans le tableau, il en résulte que la présence de  $NaCl+CuSO_4$  dans le milieu de culture des plantes, induit une diminution de la teneur relative en eau de leurs feuilles. Les plantes stressées par 200 meq de NaCl avec les doses (100, 300 et 500) de cuivre sont plus affectées par rapport aux plantes stressées par 100 meq de NaCl avec les doses (100, 300 et 500) de cuivre.

Ces résultats sont conformes à ceux indiqués par **Demirevska et al. (2004)**, la diminution de la teneur relative en eau sous le stress imposé par cuivre est attribuée de la transpiration de la plante. Selon **Bessoule et al. (2002)**, Les feuilles sont petites, crispées et ont une teinte vert foncé, et elles ferment leurs stomates pour limiter les pertes en eau (**Chatterjee, 2000**).

Des résultats similaires obtenus par **Brunet (2008)**, montrent qu'il y a peu de différences concentrations la teneur relative en eau (RWC) des plantes légumineuses (*Lathyrus sativus* L.) traitées par le cuivre, D'autres études ont permis d'observer une diminution du taux de transpiration ainsi que du contenu en eau dans les plantes (**Iqbal et Mushtaq, 1987 ; Sharma et Dubey, 2005**). Même résultats ont été monté chez l'orge (*Hordium vulgare* L.) sous stress salin, ceci pouvant être du à une fermeture des stomates induite par l'altération des flux de  $K^+$  à travers la membranes et augmentation contenu en acide abscissique (**Cheikh M'hamed et al., 2008**).

### 1.3- Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl+ CuSO<sub>4</sub>) sur les paramètres biochimiques

#### 1.3.1- Pigments chlorophylliens



**Figure 09:** Effet combiné de la salinité et de cuivre sur la chlorophylle (A, B et A+B) et les caroténoïdes chez la fève *Vicia faba* L.

Selon la figure on note que les teneurs en chlorophylle (a, b et a+b) et en caroténoïde chez les plantes stressées par des doses de NaCl+CuSO<sub>4</sub> (100+100, 100+300, 100+500, 200+100, 200+300 et 200+500), enregistrent une diminution inversement proportionnelles avec l'augmentation de la dose de cuivre, comparativement aux plantes témoins.

**Tableau 14** : Résultats moyens de la chlorophylle et de caroténoïde de *Vicia faba* L. en fonction des doses de cuivre et de chlorure de sodium.

			100			200		
		témoin	100	300	500	100	300	500
chlorophylle	CHLR A	1094,328	872,804	793,288	442,809	766,118	338,251	269,129
		±	±	±	±	±	±	±
		64,291	59,129	47,812	37,120	38,061	45,802	39,129
	CHLR B	281,056	218,918	135,304	147,034	182,599	77,555	64,032
		±	±	±	±	±	±	±
		41,912	39,108	31,021	26,032	31,821	19,032	21,521
	CHLR A+B	1375,384	1091,722	928,591	589,843	948,718	415,806	333,162
		±	±	±	±	±	±	±
71,872		67,293	68,920	58,309	47,001	59,923	48,602	
caroténoïde	351,635	236,889	166,237	152,453	164,673	104,196	64,933	
	±	±	±	±	±	±	±	
	52,185	31,033	28,732	31,831	29,910	21,080	14,562	

L'analyse statistique représente un effet hautement significatif de la teneur en pigments chlorophylliens par rapport aux plantes témoins à  $PROB=0$ .

### Discussion

Nos résultats montrent une diminution importante de la teneur en pigments chlorophylliens (Chlr A, Chlr B, Chlr A+B et Caroténoïde) chez la fève *Vicia faba* L. exposée à des différentes concentrations de (NaCl+CuSO<sub>4</sub>) par rapport aux témoins.

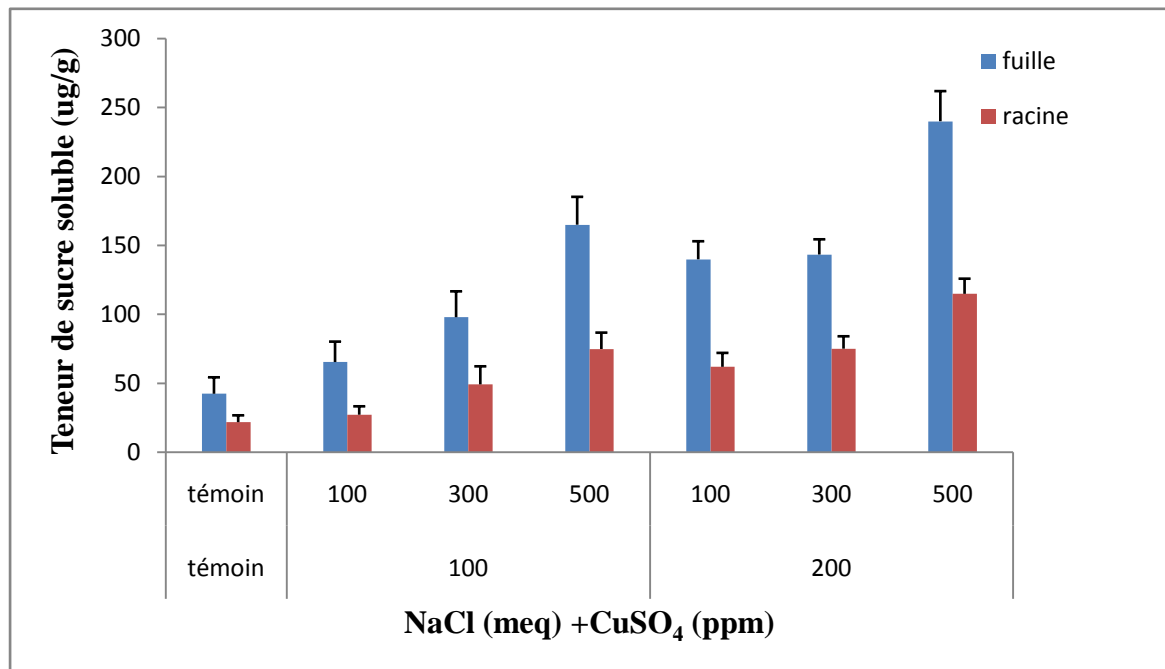
Les résultats obtenus montrent une régression hautement significative en fonction de la dose de (NaCl+CuSO<sub>4</sub>) présente dans le milieu ; les travaux de **Jiang Wang et al. (2010)** montrent que le plomb peut diminuer le taux de la chlorophylle, mais cette diminution reste faible contrairement à la diminution observée en présence de Zn et Cu.

Les travaux de **Murkowski et Skórska (2008)**, sur *Cucumis sativa* et *Scenedesmus quadricauda* ont montré que la diminution de l'activité photosynthétique est la résultante, de l'inhibition du transport des électrons dans le photosystème deux (PSII).

La salinité diminue la photosynthèse et dégrade la chlorophylle et le complexes chlorophylle-protéine (**Srivastava et al., 1988 ; Sheng et al., 2008**), les concentration en chlorophylle ont significativement réduit par les traitements de salinité en raison de la

suppression des enzymes spécifique responsable à la synthèse des pigment photosynthétique (Murkute *et al.*, 2006) ou de l'effet antagonique du  $\text{Na}^+$  sur l'absorption des minéraux (par exemple : Mg) rentrant dans le synthèse de pigments photosynthétique de ce fait réduire la concentration en chlorophylles (Sheng *et al.*, 2008 ; Giri et Mukerji, 2004), la réduction de photosynthèse est en grande partie due à la fermeture stomatate qui est probablement réduite par la conductibilité mésophyllienne, c'est à dire., le parenchyme de chlorophylle (Orcutt et Nilsen, 2000).

### 1.3.2 Sucres solubles



**Figure 10 :** Effet combiné de la salinité et du cuivre sur les sucres solubles chez la fève *Vicia faba* L.

A partir de la figure on remarque que l'application du stress salin-métallique se traduit par une augmentation de la teneur en sucres solubles chez les plantes stressées comparativement aux plantes témoins, les mêmes résultats ont été trouvés sur les racines et les feuilles.

Les plantes ont synthétisé plus de sucres solubles au niveau des feuilles par rapport aux racines.

Le taux des sucres solubles chez les plantes stressées au cuivre additionné avec 200 meq de NaCl, augmente par rapport aux plantes stressées au cuivre additionné avec 100 meq de NaCl.

**Tableau 15:** Résultats moyens du taux de la proline chez *Vicia faba* L. en fonction des doses de cuivre et de chlorure de sodium.

			100			200		
	Dose	témoin	100	300	500	100	300	500
Taux de sucre soluble	feuille	42,424	65,402	97,891	164,959	139,88	143,363	239,975
		±	±	±	±	±	±	±
		11,921	14,812	18,782	20,201	13,098	11,012	21,826
	racine	21,821	27,245	49,221	74,87	61,951	75,092	114,864
		±	±	±	±	±	±	±
		4,976	6,089	13,090	11,867	10,091	9,001	10,984

L'analyse de la variance représente un effet hautement significatif du taux des sucres solubles par rapport aux plantes témoins à  $PROB=0$ .

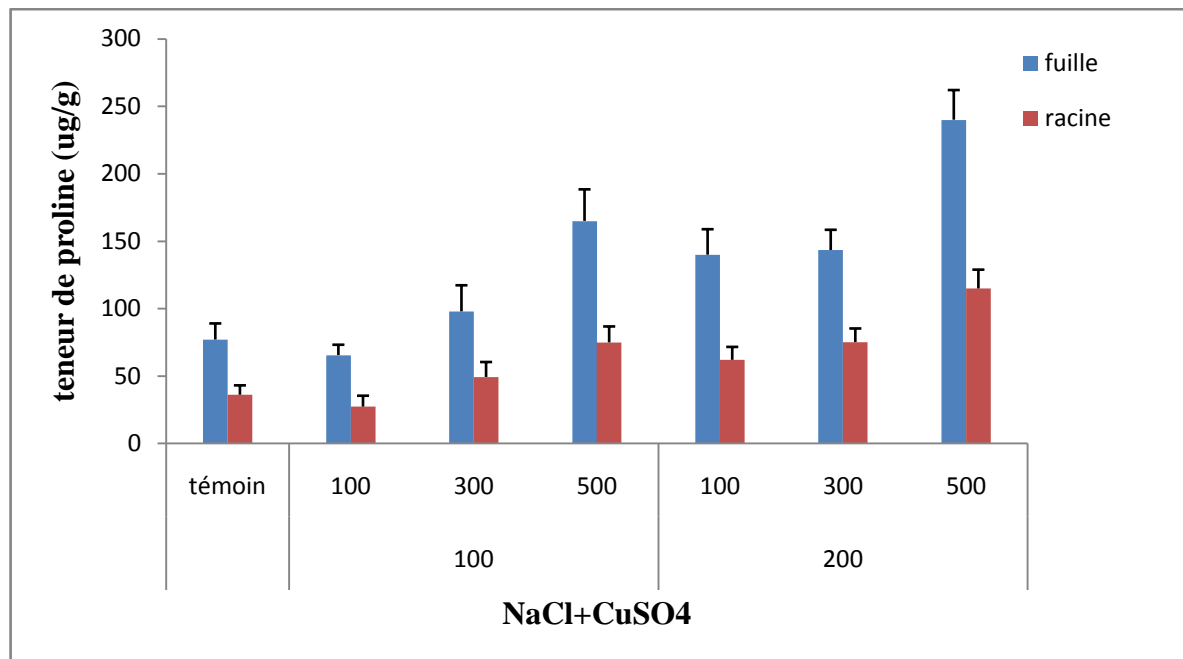
### Discussion

A partir la figure et du tableau on note que l'application du stress salin-métallique cause une teneur plus élevée en sucres solubles avec l'augmentation du stress appliqué, surtout sur au niveau des feuilles.

Sous l'action du cuivre et de la salinité, les plantes de *Vicia faba* L. synthétisent et accumulent des quantités plus importantes en sucres solubles dans les parties aériennes par rapport à l'absence de ces deux contraintes. Les sucres solubles totaux contribuent fortement à l'ajustement osmotique chez les plantes en conditions de stress (**Ben Hassine et Bouzid, 2008**). Ils compromettent indirectement la croissance puisque les glucides ne sont pas directement métabolisables, et d'autre part, parce qu'il est aujourd'hui clairement établi que l'accumulation des sucres solubles totaux peut modifier certains paramètres de la photosynthèse en inhibant l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'assimilation du  $CO_2$  (**Koch, 1996**).

Sous l'action du plomb et de la salinité, les plantes de *Vicia faba* L. synthétisent et accumulent des quantités plus importantes en sucres solubles dans les parties aériennes par rapport à l'absence de ces deux contraintes.

## 1.3.3 Proline



**Figure 11:** Effet combiné de la salinité et du cuivre sur la teneur en proline chez la fève *Vicia faba* L.

Les résultats moyens de la teneur en proline dans les feuilles et les racines de la fève *Vicia faba* L. montre que le taux de proline augmente avec l'accroissement des concentrations de (NaCl+ CuSO<sub>4</sub>). On note que le contenu de la proline avec la dose (200+500) est plus élevé par rapport aux témoins.

Les plantes ont synthétisé plus de proline au niveau des feuilles par rapport aux racines.

Le taux de proline chez les plantes stressées au cuivre additionné avec 200 meq de NaCl est plus élevé par rapport aux plantes stressées au cuivre additionné avec 100 meq de NaCl.

Les résultats moyens de la teneur en proline dans les feuilles chez *Vicia faba* L. est plus élevée par rapport à celle des racines.

**Tableau 16:** Résultats moyens du taux de proline chez *Vicia faba* L. en fonction des doses de cuivre et de chlorure de sodium.

		100				200		
	Dose	témoin	100	300	500	100	300	500
Taux de proline	feuille	76,992	65,402	97,891	164,959	139,88	143,363	239,975
		±	±	±	±	±	±	±
		11,932	7,721	19,322	23,398	18,916	15,001	22,014
	racine	36,048	27,245	49,221	74,87	61,951	75,092	114,864
		±	±	±	±	±	±	±
		6,965	8,086	11,103	11,818	9,577	10,093	13,951

L'analyse de variance représente un effet hautement significatif du taux de proline par rapport aux plantes témoins à  $PROB=0$ .

### Discussion

Nos résultats montrent que l'interaction entre la salinité et le cuivre, induit une augmentation hautement significative des taux de proline accumulés dans les parties aériennes et souterraines des plantes de *Vicia faba* L. Cette augmentation est corrélée positivement avec les concentrations de chlorure de sodium et du cuivre fournies dans le milieu de culture des plantes.

Conformément à nos résultats, une augmentation de cet acide aminé a été observée chez le *Canavalia ensiformis* sous l'effet du cuivre avec une durée d'exposition de 11 semaines, et chez *Coffea arabica* pendant 30 semaines (Andrade *et al.*, 2010).

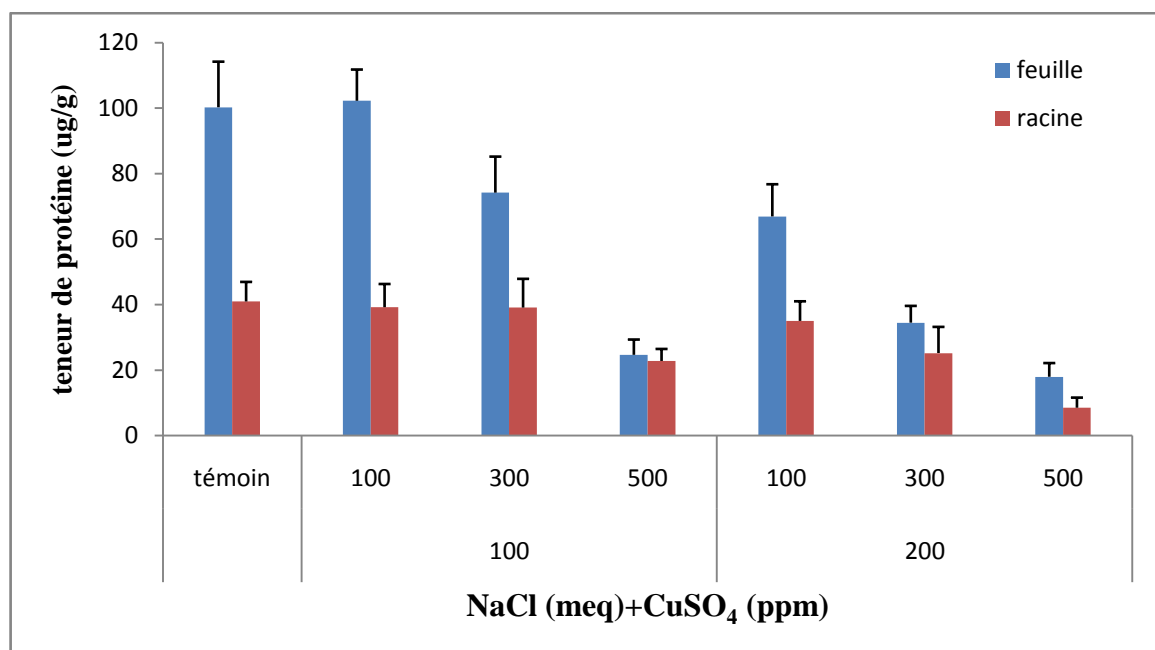
Nos résultats sont en accord avec de nombreux travaux, la proline est un acide aminé souvent considéré comme un biomarqueur de stress (Djerroudi *et al.*, 2010). Les concentrations salines appliquées ont provoqué une augmentation linéaire des teneurs en proline.

Les mêmes tendances ont été observées chez le blé dur (Chorfi, 2009), la tomate (Classen, 2005), le thé (Chakraborty *et al.*, 2002), la fève (Bousaba, 2001) et l'olivier (Charltzoulakis, 1999). Cette augmentation de l'accumulation de la proline à 200 meq de NaCl (106,138  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de MS) pourrait être une explication de la capacité de résistance de *Vicia faba* L. au stress métallique (présence de plomb) et au stress salin parce que

l'accumulation de la proline a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans différentes situations de stress (osmotiques, hydriques et thermiques) (**Hubac et Viera Da Silva, 1980 ; Bellinger et al., 1989 ; Dorfling et Askman, 1989 ; Ober et Sharp, 1994 ; Udea et al., 2007**) au déficit hydrique chez *Sesuvium portulacastrum* (**Slama et al., 2004**) à la salinité, chez l'*Atriplex halimus* L. (**Bidai, 2001**) et en réponse au cadmium et autres métaux lourds (**Schat et al., 1997; Sharma et Dietz, 2006**).

Certains auteurs comme **Singh et al. (1973)**, pensent que les quantités de proline accumulées pourraient être liées au niveau de tolérance aux stress. Le rôle attribué à la proline dans la réponse des plantes aux stress, reste parfois controversé ; pour **Qian et al., (2001)**, son accumulation contribue à l'acquisition de cette résistance grâce à l'ajustement osmotique dont la proline est responsable. Elle pourrait, également, intervenir dans la régulation du pH cytoplasmique (**Denden et al., 2005**) et dans la protection de la membrane cellulaire (**Hassani et al., 2008**) ou constituer une réserve de carbone et d'azote réduits, utilisés par la plante postérieurement à la période du stress (**Keller et Ludlow, 1993**). Cette aptitude des plantes à la synthèse et à l'accumulation de proline n'est pas spécifique seulement aux halophytes (**Hu et al., 1992**), elle l'est également pour de nombreuses glycophytes, telles que la tomate **Hernandez et al., (2000)**, l'orge (**Hassani et al., 2008**) et le blé dur (**Zerrad, 2006**).

## 1.3.4- Protéine



**Figure 12:** Effet combiné de la salinité et du cuivre sur la protéine chez la fève *Vicia faba* L.

Les résultats obtenus montrent que le taux de protéine sous l'effet de  $\text{CuSO}_4 + \text{NaCl}$  a enregistré une diminution remarquable par rapport au témoin avec une légère augmentation pour les doses : 100+300, 100+500, 200+100, 200+300 et 200+500, au niveau des racines et des feuilles.

Le taux de la protéine chez les plantes stressées au cuivre additionné avec 200 meq de NaCl est plus affecté par rapport aux plantes stressées au cuivre additionné avec 100 meq de NaCl.

Les résultats moyens des taux de protéine dans les feuilles de *Vicia faba* L. augmentent par rapport aux racines. Tandis que la valeur la plus faible ( $17,925 \pm 4,194$ ) est marquée par la dose la plus forte (200+500).

**Tableau 17:** Résultats moyens du taux de proline chez *Vicia faba* L. en fonction des doses de cuivre et de chlorure de sodium.

		100			200			
	Dose	témoin	100	300	500	100	300	500
Taux de protéine	feuille	100,293	102,273	74,194	24,633	66,935	34,457	17,925
		±	±	±	±	±	±	±
		13,936	9,545	11,020	4,679	9,826	5,129	4,194
	racine	40,946	39,186	39,076	22,764	35,007	25,183	8,468
		±	±	±	±	±	±	±
		5,974	7,099	8,78	3,670	5,987	7,986	3,091

L'analyse statistique représente un effet significatif du taux de protéine par rapport aux plantes témoins à  $PROB=0$ .

### Discussion

L'observation des résultats moyens témoigne une diminution du taux des protéines en fonction de l'intensité des doses en (Na Cl+CuSO<sub>4</sub>) appliquées.

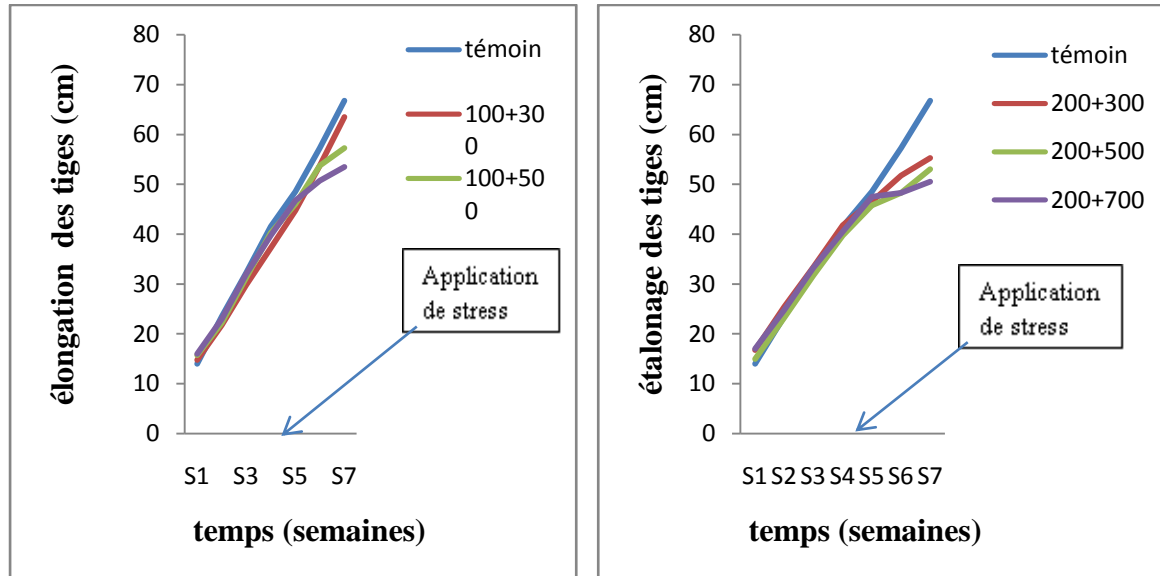
La diminution du taux des protéines est en accord avec les résultats enregistrés par **John et al. (2008)**, sur *Lemna polyrrhiza* L., et **Azooz et al., (2011)** sur *Hibiscus esculentus*, ces derniers ont attribué cette diminution à une peroxydation lipidique et à la fragmentation des protéines sous l'action des ROS, suite probablement à une sur activation des protéases responsables de la mise à solution des protéines (**Sharma et Dubey, 2005**). La diminution du taux des protéines au niveau des racines de la fève est rapportée par **Belatgi (2005)**, à une inhibition de l'activité de la nitrogénase.

En présence de forte concentration en plomb le pool protéique peu fortement diminué (**Jana et al., 2009**).

## 2. Effet combiné du stress salin et métallique (NaCl+ZnSO<sub>4</sub>)

### 2.1- Effet combiné du stress salin et métallique (NaCl+ZnSO<sub>4</sub>) sur les paramètres morphologiques

#### 2.1.1- Hauteur des tiges

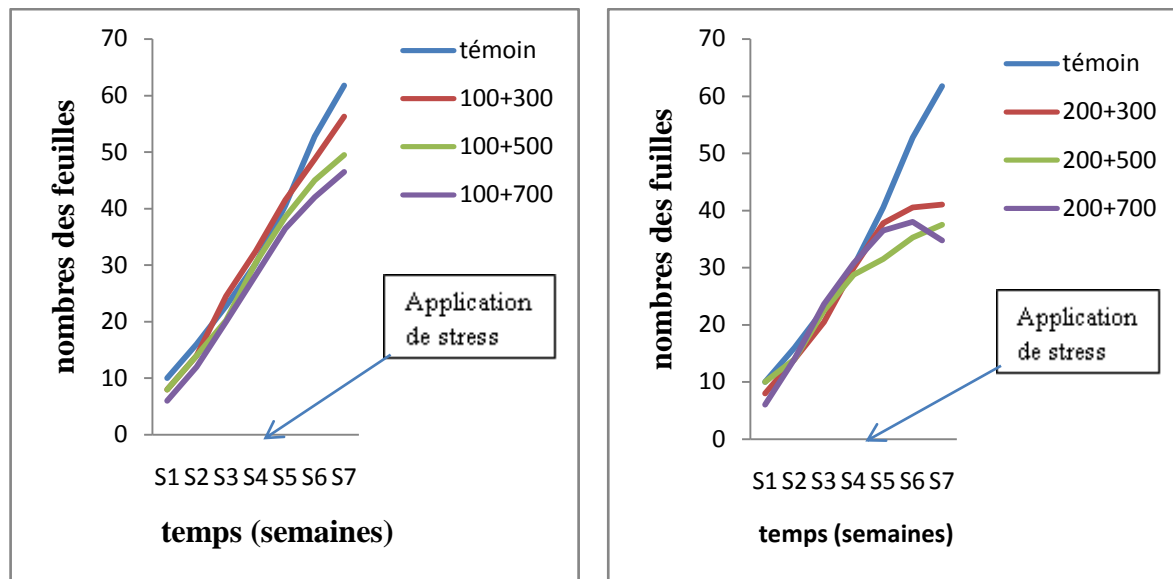


**Figure 13:** Effet combiné de la salinité et du zinc sur la hauteur des tiges chez la fève *Vicia faba* L.

Les résultats obtenus montrent que la longueur de tiges sous l'effet de (NaCl+ZnSO<sub>4</sub>) n'a pas enregistré un effet dans les quatre premières semaines, tandis qu'on a observé une diminution remarquable par rapport au témoin à partir de 6<sup>ème</sup> semaines.

La longueur des tiges chez les plantes stressées au zinc additionné avec 200 meq de NaCl est plus affectée par rapport aux plantes stressées au zinc additionné avec 100 meq de NaCl.

## 2.1.2- Nombre des feuilles

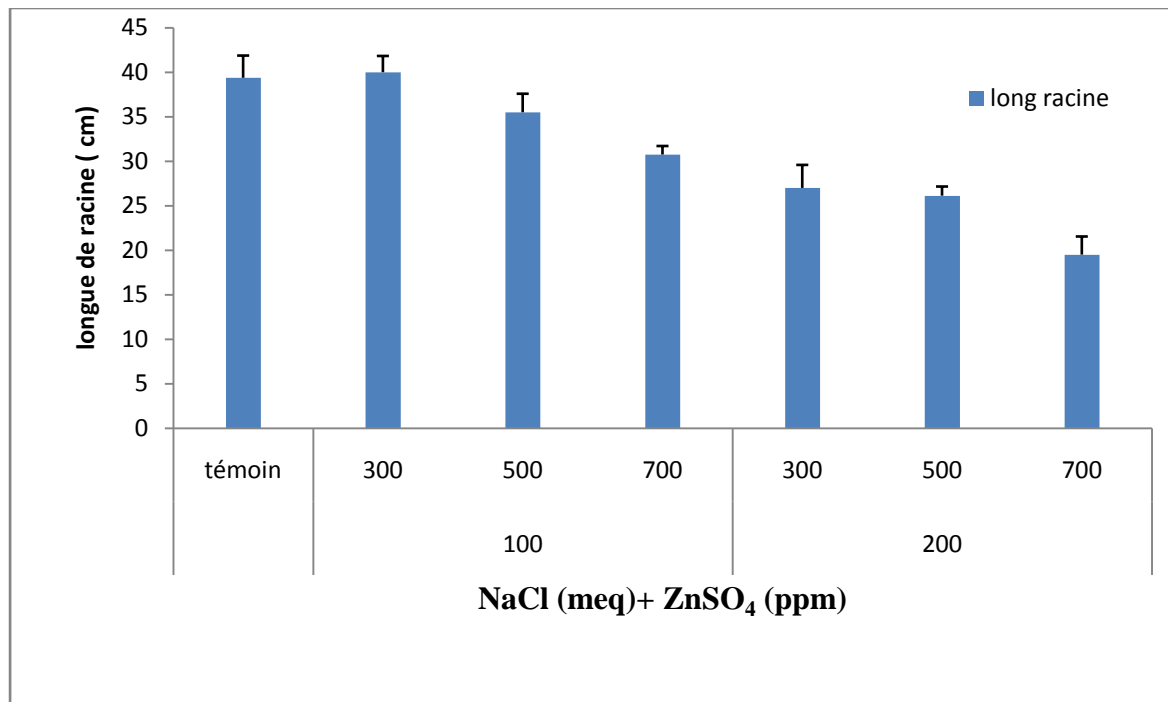


**Figure 14:** Effet combiné de la salinité et le zinc sur nombres des feuilles chez la fève *Vicia faba* L.

Les résultats obtenus montrent que le nombre des feuilles sous l'effet de (NaCl+ ZnSO<sub>4</sub>) n'a pas enregistré un effet dans les quatre premières semaines tandis qu'on observe une diminution remarquable par rapport au témoin à partir de la 6<sup>ème</sup> semaines.

Le nombre des feuilles chez les plantes stressées au zinc additionné avec 200 meq de NaCl est plus affecté par rapport aux plantes stressées au cuivre additionné avec 100 meq de NaCl.

## 2.1.3 Longueur racinaire



**Figure 15:** Effet combiné de la salinité et du zinc sur la longueur racinaire chez la fève *Vicia faba* L.

Selon la figure on note que la longueur racinaire chez les plantes stressées par des doses de NaCl+CuSO<sub>4</sub> (100+300, 100+500, 100+700, 200+300, 200+500 et 200+700), enregistrent une diminution inversement proportionnelles avec l'accroissement des doses, comparativement aux plantes témoins.

Tandis que la valeur plus faible ( $19,5 \pm$ ) est marquée par la dose la plus forte de (200+700).

Les plantes stressées au zinc additionné avec de 200 meq de NaCl sont plus affectées par rapport aux plantes stressées au zinc additionné avec 100 meq de NaCl.

**Tableau 18:** Résultats moyens de la longueur racinaire de *Vicia faba* L. en fonction des doses de zinc et de chlorure de sodium.

Dose	témoin	100			200		
		300	500	700	300	500	700
Longueur racinaire	39,375	40	35,5	30,75	27	26,125	19,5
	±	±	±	±	±	±	±
	2,496	1,826	2,082	0,957	2,582	1,031	2,041

L'analyse statistique représente un effet hautement significatif de la longueur racinaire par rapport aux plantes témoins à  $PROB=0$ .

### Discussion

Ces résultats démontrent que l'application du zinc avec le chlorure de sodium réduit nettement la morphogénèse des deux parties de la plante (caulinaire et racinaire).

Dans notre expérimentation, on a enregistré une nette diminution de la production de biomasse, qui est un signe visible de la toxicité du ( $ZnSO_4+NaCl$ ) en particulier. L'exposition des plantes de la fève *Vicia faba* L. aux différents traitements ( $ZnSO_4+NaCl$ ) a causé des diminutions notables des paramètres biométriques, surtout quand on mélange les différents traitements de zinc avec 200 meq de chlorure de sodium.

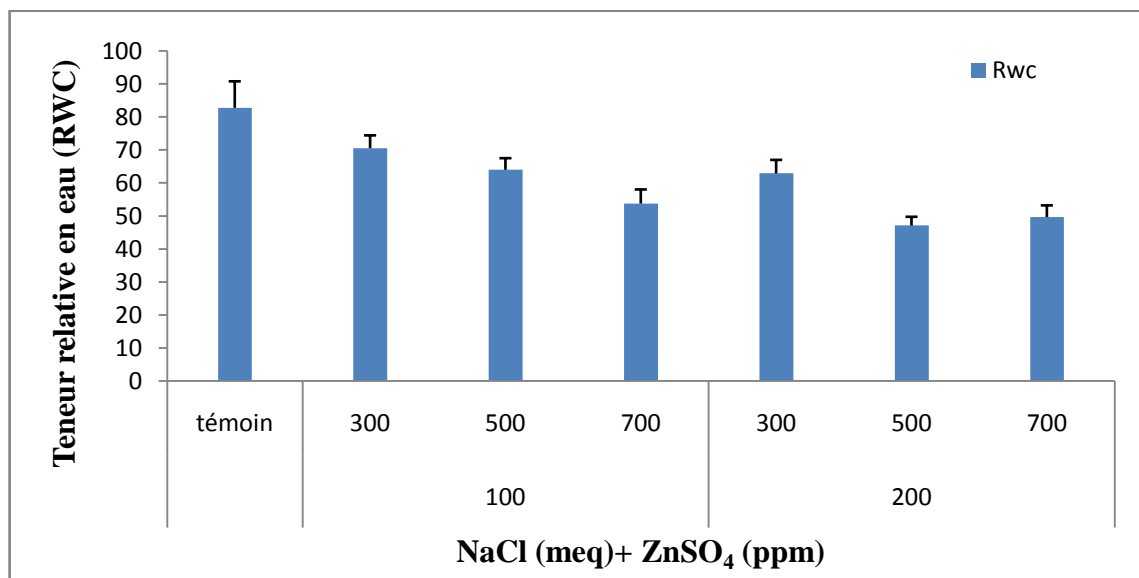
De ce fait plusieurs travaux montrent que le zinc a une influence sur la réduction de la morphologie de la plante. À des concentrations élevées, le zinc peut directement inhiber la croissance des racines en agissant sur la division cellulaire, l'élongation cellulaire ou la combinaison des deux. Il est connu que les métaux sont susceptibles d'inhiber l'activité mitotique, de produire des anomalies cytologiques et de provoquer des mutations au niveau de l'ADN (**Vijayarengan et Mahalakshmi, 2013**).

La diminution de la longueur des parties aériennes et racinaires des plantes à une concentration élevée de zinc peut être causée par une réduction, soit du nombre de cellules de *Phaseolus vulgaris* (**Nieman et al., 2013**), soit de leur taille (**Nieman et al., 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**).

## 2.2- Effet combiné du stress salin et métallique (NaCl+ ZnSO<sub>4</sub>) sur les paramètres physiologiques

### 2.2.1- Teneur relative en eau (RWC)



**Figure 16:** Effet combiné de la salinité et du zinc sur la teneur relative en eau (RWC) chez la fève *Vicia faba* L.

La figure montre que les plantes de la fève *Vicia faba* L. stressés par ZnSO<sub>4</sub> + NaCl sous les doses (100+300, 100+500, 100+700, 200+300, 200+500 et 200+700), présentent une diminution de la teneur relative en eau de leurs feuilles par rapport aux témoins.

Les plantes stressées au zinc additionné avec 200 meq de NaCl, sont plus affectées par rapport aux plantes stressées au zinc additionné avec 100 meq de NaCl.

**Tableau 19:** Résultats moyens de la Teneur relative en eau (RWC) chez *Vicia faba* L. en fonction des doses de zinc et de chlorure de sodium.

Dose	témoin	100			200		
		300	500	700	300	500	700
Teneur relative en eau (RWC)	82,782	70,536	64,01	53,779	62,921	47,107	49,647
	± 14,852	± 11,5	± 14,007	± 10,346	± 9,207	± 8,121	± 5,004

L'analyse statistique révèle un effet hautement significatif (PROB= 0) de la teneur relative en eau (RWC) par rapport aux plantes témoins.

### Discussion

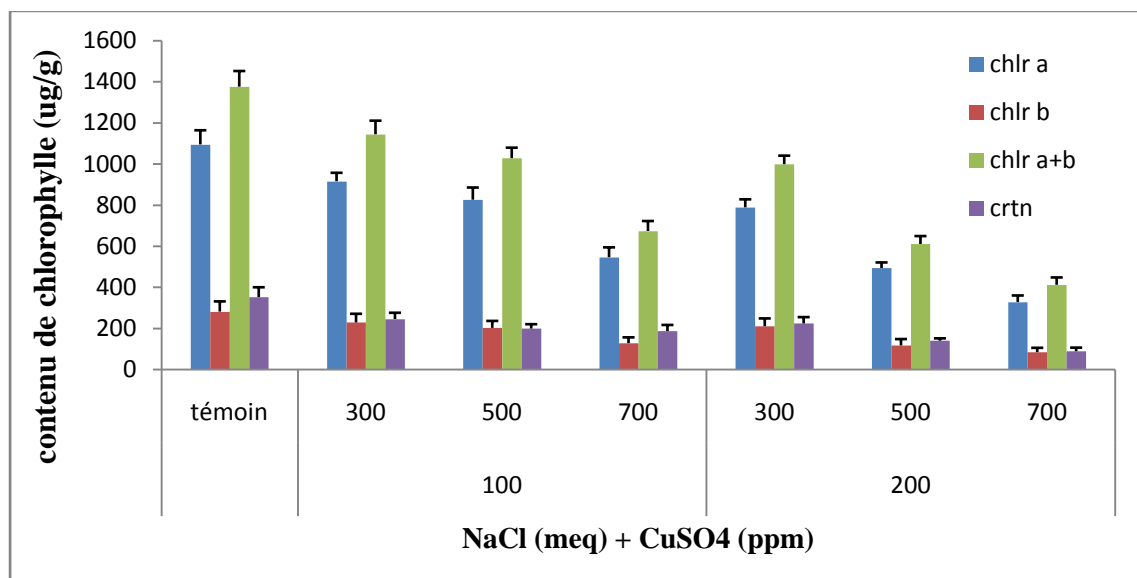
Dans notre essai la teneur en eau des feuilles est également affectée négativement en fonction de concentration par rapport au témoin. Le pourcentage de réduction de teneur en eau est généralement considéré comme indice de sensibilité des plantes vis-à-vis du stress.

On compare les résultats obtenus avec ceux de ( Malick *et al.*, 2012 ) qui montrent que l'effet de stress salin établi chez le coton et le haricot en présence de sel même à faible dose (200 mM) induisait une diminution de la teneur relative en eau .STROGONOV (1964). La conséquence de cette diminution de la transpiration est la réduction de l'absorption hydrique par les racines.

De nombreuses études ont mis en évidence une perturbation importante du statut hydrique des plantes traitées au plomb. Elles ont principalement relevé une diminution de la transpiration, y compris à de faibles doses, ainsi qu'une diminution de la teneur en eau (Pourrut, 2008 ; Brunet *et al.*, 2009).

### 2.3- Effet combiné du stress salin et métallique (NaCl+ZnSO<sub>4</sub>) sur les paramètres biochimiques

#### 2.3.1- Pigments chlorophylliens



**Figure 17:** Effet combiné de la salinité et le zinc sur la chlorophylle (A, B, A+B) et les caroténoïdes chez la fève *Vicia faba* L.

La figure montre que les plantes de la fève *Vicia faba* L. intoxiquées par le zinc avec le chlorure de sodium présentent une diminution entre eux desteneurs en chlorophylle (A, B et A+B) et caroténoïde chez les plantes stressées par des doses de NaCl+ZnSO<sub>4</sub> (100+300,100+500, 100+700, 200+300, 200+500 et 200+700), enregistrent une diminution inversement proportionnelles avec l'accroissement de la dose du zinc comparativement aux plantes témoin.

La dose (200meq+700ppm) a présenté l'effet le plus élevées (avec une teneur en Chlr A de :327,704ug/gcomparativement aux témoins avec une valeur de 1094,328ug/g.

**Tableau 20:** Résultats moyens de la chlorophylle et de caroténoïde chez *Vicia faba*. L. en fonction des doses de zinc et de chlorure de sodium.

			100			200		
		Témoin	300	500	700	300	500	700
CHLR	CHLR A	1094,328	915,235	825,644	545,718	788,44	493,301	327,704
		±	±	±	±	±	±	±
		68,908	41,01	59,108	47,982	38,915	26,912	31,876
	CHLR B	281,056	228,432	201,897	127,727	209,817	116,67	83,952
		±	±	±	±	±	±	±
		49,765	41,986	33,9	28,091	38,238	30,934	21,009
	CHLR A+B	1375,384	1143,667	1027,541	673,444	998,257	609,971	411,657
		±	±	±	±	±	±	±
		76,079	66,172	51,008	48,302	41,534	38,671	35,721
	CRTN	351,635	244,803	198,871	186,441	223,617	139,76	88,325
		±	±	±	±	±	±	±
		47,883	30,7	21,002	29,729	30,687	11,318	17,632

L'analyse statistique révèle un effet hautement significatif (PROB= 0) de la teneur en chlorophylle par rapport aux plantes témoins.

### Discussion

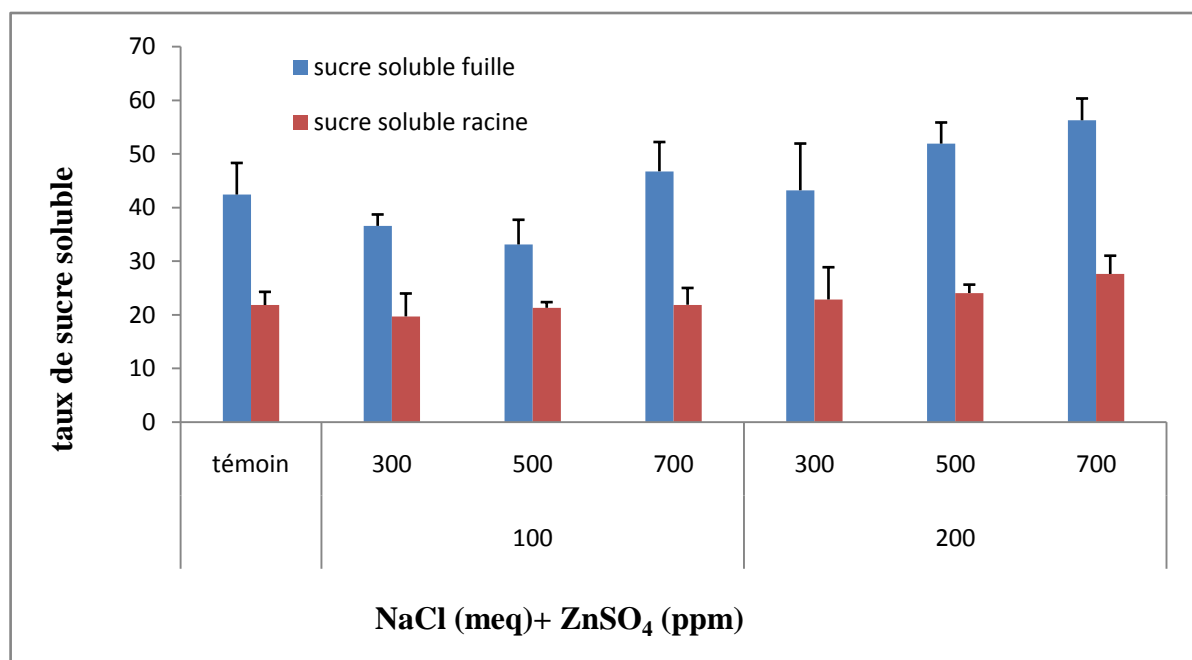
Nos résultats ont montré que le teneur en chlorophylle (a, b et a+b) et en caroténoïde sont très important au niveau de témoin et très faible pour les concentrations de NaCl+CuSO<sub>4</sub> . nos résultat sont conformes à ceux obtenus par (Belfakih et al., 2013) qui ont montré que les teneurs en chlorophylles sont plus importantes chez les témoins,

comparativement à celles dosées chez les plantes traitées par le sel ; et aussi de ceux de (R'him et al.,2013) qui ont rapporté que les teneurs en chlorophylle a, chlorophylle b et totale ont été significativement réduite sous l'effet du stress salin.

De même selon Zid et Boukhris (1977), le stress salin peut induire une diminution de l'assimilation de l'azote au niveau des feuilles, probablement bloqué par le sel, par conséquent une baisse des pigments chlorophylliens.

Nous confirmons nos résultats avec d'autres travaux que la teneur en pigments chlorophylliens est réduit sous l'effet du plomb dans le radis ( Sun et al., 2010), le maïs, *Chlorella vulgaris* et *Pfaffia glomerata* ( Gupta et al., 2011) ; et des métaux lourds comme l'aluminium dans la pomme de terre et le concombre (Tabaldi et al., 2007 ), le cadmium dans le maïs, *Pfaffia glomerata* et le radis ( El-Beltagi et al., 2010), le cuivre dans le radis (Sun et al., 2010), et le nickel dans le blé (Gajewska et Sktodowska, 2007) ; cet effet est en fonction de la concentration et de la durée du traitement avec le les métaux lourds.

### 2.3.2 Sucre soluble



**Figure 18:** Effet combiné de la salinité et du zinc sur la teneur en sucres solubles chez la fève *Vicia faba* L.

D'après l'analyse de la figure, on note que sous l'action de stress salin-métallique, le taux d'accumulation des sucres solubles dans les feuilles et les racines chez les plantes augmente proportionnellement avec l'accroissement des doses appliquées comparativement aux plantes témoins.

On note que la teneur des sucres solubles est très élevée à la dose de (200+500, 100+700 et 200+700) par rapport aux témoins, avec une convergence des valeurs au niveau des racines.

Le taux des sucres solubles chez les plantes stressées au zinc additionné avec 200 meq de NaCl augmente par rapport aux plantes stressées au zinc additionné avec 100 meq de NaCl.

Les résultats moyens de la teneur en sucres solubles dans les feuilles de *Vicia faba* L. augmente par rapport à celles des racines.

**Tableau 21** : Résultats moyens de la teneur en sucres solubles chez *Vicia faba*. L en fonction des doses de zinc et de chlorure de sodium.

			100			200		
		Témoin	300	500	700	300	500	700
Taux du sucre soluble	feuilles	42,424	36,577	33,116	46,755	43,218	51,922	56,274
		± 8,873	± 7,02	± 8,312	± 10,001	± 9,972	± 11,021	± 10,719
	racine	21,821	19,701	21,302	21,871	22,853	24,054	27,613
		± 4,835	± 7,81	± 3,1	± 6,761	± 4,992	± 6,703	± 5,922

L'analyse statistique révèle un effet significatif (PROB= 0) de la teneur en sucres soluble par rapport aux plantes témoins.

### Discussion

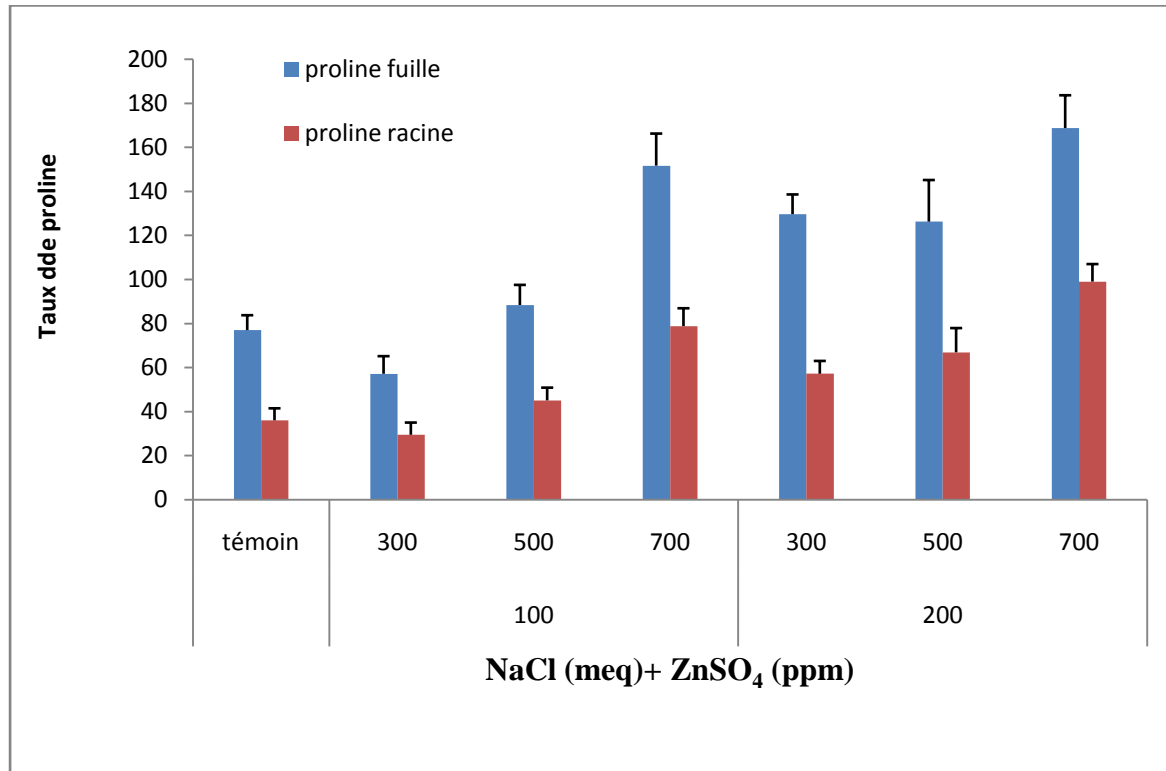
A partir de la figure et du tableau on note que l'application de stress salin-métallique cause une augmentation plus élevée de la teneur en sucres solubles avec l'augmentation de la dose du stress appliquées surtout au niveau des feuilles.

Sous l'action de zinc et de la salinité, les plantes de *Vicia faba* L. synthétisent et accumulent des quantités plus importantes des sucres solubles dans les parties aériennes par rapport à l'absence de ces deux contraintes.

Les sucres solubles, jouent un rôle central dans la structure, métabolisme et le fonctionnement des plantes. Ils sont de plus impliqués dans de nombreux mécanismes de réponse aux stress biotiques (**Ramel, 2009**). Les sucres solubles, peuvent jouer un rôle dans la protection des chlorophylles et des caroténoïdes contre l'agressivité du stress métallique

(Azouz et al., 2011). Verma et al. (2001), remettent cette accumulation à une adaptation très possible de la plante pour ajuster et maintenir un potentiel osmotique favorable.

### 2.3.3-Proline



**Figure 19:** Effet combiné de la salinité et du zinc sur la proline chez la fève *Vicia faba* L.

Les résultats moyens de la teneur en proline dans les feuilles et les racines de la fève *Vicia faba* L. montre que le taux de la proline augmente avec l'accroissement des concentrations de (NaCl+ ZnSO<sub>4</sub>). On note que le teneur en proline est très élevée à la dose (200+700) par rapport aux témoins.

Le taux de proline chez les plantes stressées au zinc additionné avec 200 meq de NaCl augmente par rapport les plantes stressées au zinc additionné avec 100 meq de NaCl.

Les résultats moyens de la teneur en proline dans les feuilles de *Vicia faba* L. augmente par rapport à celles des racines.

**Tableau 22:** Résultats moyens de la teneur en proline chez *Vicia faba* L. en fonction des doses de zinc et de chlorure de sodium.

			100			200		
		Témoin	300	500	700	300	500	700
Taux du proline	feuilles	76,992	57,169	88,391	151,659	129,62	126,263	168,727
		±	±	±	±	±	±	±
		15,529	11,208	15,11	18,169	10,02	14,971	13,909
	racine	36,048	29,493	45,104	78,797	57,201	66,922	99,031
		±	±	±	±	±	±	±
		7,007	4,921	8,09	7,281	5,932	11,764	7,078

L'analyse statistique révèle un effet significatif (PROB= 0) de la teneur en chlorophylle par rapport aux plantes témoins.

### Discussion

Nos résultats montrent que l'interaction entre la salinité et le zinc induit une augmentation hautement significative des taux de proline accumulés dans les parties aériennes et souterraines des plantes de *Vicia faba* L. Cette augmentation est corrélée positivement avec les concentrations de Chlorure de sodium et du zinc fournies dans le milieu de culture des plantes.

La proline est parmi les acides aminés les plus présents au niveau des cellules dans les conditions de stress, elle joue un rôle dans la tolérance des plantes à la contamination par les métaux lourds, notamment le plomb (**John et al., 2011**).

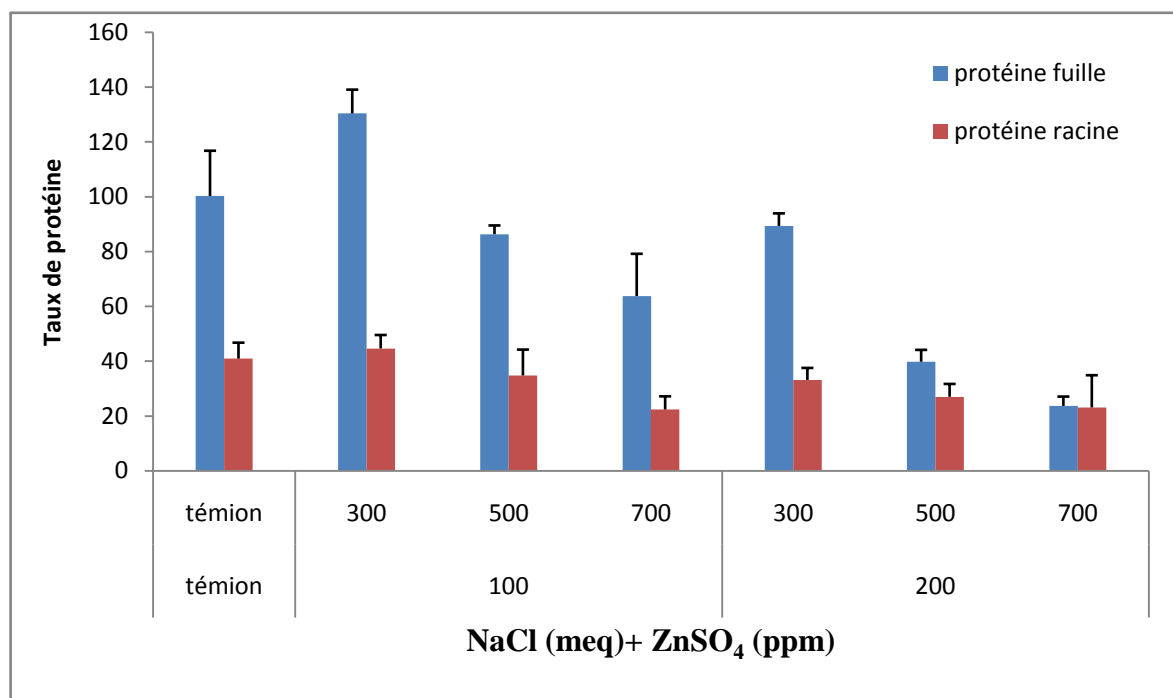
Les résultats relevés dans cette étude, montrent une augmentation relative des teneurs de la proline en fonction de l'accroissement des doses de NaCl+ ZnSO<sub>4</sub> appliquées dans le substrat.

Nos résultats obtenus sont en accords avec plusieurs travaux. L'accumulation de la proline a été enregistré en présence de fortes doses de plomb (**Qureshi et al., 2008**) appliquées sur des plantes de la fève, ou sur d'autres espèces (**Jiang et al., 2011**).

Pour maintenir le statut hydriques, la plante secrète massivement les osmolytes en particulier la proline (**Qureshi et al., 2011**). Selon **Hedaya (2008)**, cette dernière semble jouer un rôle vitale dans l'ajustement osmotique, de plus, cet acide amine est considéré comme un stabilisateur de macromolécules, un chélateur de métaux grâce aux groupement thiol (-SH) et un protecteur de la structure subcellulaire (**Azooz et al., 2011**).

L'accumulation de la proline dans les tissus est peut-être due à une protéolyse (Pourrut, *al.*, 2011) induite par la présence d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) résultantes de la présence de plomb (Wong *et al.*, 2008).

### 2.3.4- Protéine



**Figure 10:** Effet combiné de la salinité et le zinc sur la protéine chez la fève *Vicia faba* L.

Selon la figure, on note que le taux de protéine chez les plantes stressées par des doses NaCl+ZuSO<sub>4</sub> (100+500, 100+700, 200+300, 200+500 et 200+700), enregistrent une diminution inversement proportionnelles avec l'accroissement de la dose de zinc comparativement aux plantes témoins.

Le taux de la protéine chez les plantes stressées au zinc additionné avec 200 meq de NaCl est plus affecté par rapport aux plantes stressées au zinc additionné avec 100 meq de NaCl.

Les résultats moyennes des taux de protéine dans les feuilles de *Vicia faba* L. augmentent par rapport aux racines.

**Tableau 23:** Résultats moyens de la teneur en protéine chez *Vicia faba* L. en fonction des doses de zinc et de chlorure de sodium.

			100			200		
		Témoin	300	500	700	300	500	700
Taux de la protéine	feuilles	100,293	130,425	86,364	63,783	89,369	39,809	23,68
		±	±	±	±	±	±	±
		17,406	19,05	11,002	10,491	11,078	7,654	4,036
	racine	40,946	44,648	34,787	22,397	33,174	27,016	23,13
		±	±	±	±	±	±	±
		6,715	8,456	7,103	5,564	6,945	4,098	8,765

L'analyse statistique révèle un effet hautement significatif (PROB= 0) de la teneur en protéine chez les plantes stressées par rapport aux plantes témoins.

### Discussion

L'observation des résultats moyens enregistre une diminution du taux des protéines en fonction de l'intensité des doses en (Na Cl+ZnSO<sub>4</sub>) appliquées.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus chez le haricot et le petit pois, où il y a une décroissance dans l'incorporation de l'ammonium en acide aminé sous stress salin ; par conséquent, la fraction non protéique contenant de l'azote s'accroît, cependant la fraction protéique contenant de l'azote change irrégulièrement chez les plantes stressées (Cordovilla et al . ,1995).

**Conclusion**

## Conclusion

---

### Conclusion générale

À la fin de ce travail, que nous avons mené sur la réponse de la fève (*Vicia faba* L.) irriguer par différents concentrations de sulfate de cuivre (100,300 et 500 ppm) et de sulfate de zinc (300,500 et 700 ppm) additionnées séparément aux chlorure de sodium de 100 et 200 meq.l<sup>-1</sup>, dans le but de déterminer l'effet combiné du stress salin-métalliques sur les paramètres morpho-physiologiques et les marqueurs biochimiques. Il ressort que le stress salin-métallique exerce chez la fève (*Vicia faba* L.) un effet dépressif sur tous les paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques étudiés. Les teneurs de ces paramètres sont souvent traduits négativement. Le degré de sensibilité ou de tolérance dépend de la variété, et de l'intensité du stress.

Les paramètres morpho-physiologiques a sous l'effet combiné de stress salin-métallique (Cu, Zn) :

- Réduction nettement de la morphogenèse des deux parties de la plante (aérienne et racinaire).
- diminution la teneur en eau des feuilles.

Les marqueurs biochimiques mesurés a sous l'effet combiné de stress salin-métallique (Cu, Zn) traduisent également une sensibilité au niveau des traitements dans le sens où on noté:

- diminution le teneur des pigments chlorophylliens
- augmentation de taux de proline
- augmentation de taux de sucre soluble
- diminution de taux de protéine

Nos résultats suggérant d'une manière générale que la solution saline additionnée au cuivre ou zinc administrés par la fève (*Vicia faba* L.) induit une sensibilité de cette espèce au stress abiotique appliquée tandis que le cuivre est le métal le plus toxique par rapport au zinc.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

- Adriano, 2001:** Trace elements in the terrestrial environment. Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals, 2nd Edition, New York: Springer-Verlag.
- Alloway et al, 1995:** Soil processes and the behaviour of heavy metals. In Alloway, B. J. (Ed.). Heavy metals in soils. Chapman & London, p11-35.
- Alkorta, I., Hernández-Allica, J., Becerril, J.M., Amezaga, I., Albizu, I., Garbisu, C., 2004:** Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. Rev. Environ. Sci. Biotechnol. 3, 71–90.
- Amane M. I. V., Vieira C., Novais R. F., Araujo G. A. A, 1999:** Nitrogen and molybdenum fertilization of the common bean crop in the zona da mata region, Minas Gerais state, Brazil. Revista brasileira de ciência do solo. Vol. 23, no3, pp. 643-650.
- Anonyme a, 1998:** Contamination des sols par les éléments en trace : les risques et leur gestion. Rapport 42.
- Anonyme b, 1986:** Directive 86/278/CEE. Relative à la protection de l'environnement et notamment des sols, lors de l'utilisation des boues d'épuration en agriculture (12 juin 1986).
- ANONYME, 2006 :** Conférence électronique sur la salinisation: Extension de la salinisation et Stratégies de prévention et réhabilitation. Organisée et coordonnée par: IPTRID du 6 février au 6 Mars 2006, 20 p.
- Anonyme, 2007:** La féverole de la plante à ses utilisations. Intérêt culturel de la fève, 15p.
- Anonyme, 2009:** Variétés de tomate. Sarl CASAP. (PDF).3 p.
- Aouar-Sadli M, Louadi K, Doumandji S-E,2008:** Pollination of the broad bean (*Vicia faba* L. var. major) (Fabaceae) by wild bees and honey bees (Hymenoptera: Apoidea) and its impact on the seed production in the Tizi-Ouzou area (Algeria). African Journal of Agricultural Research. 3 (4): 266-272.
- Azouz MM; Youssef MM; Al-Omair MA, 2011:** Comparative evaluation of zinc and lead and their synergistic effects on growth and some physiological responses of Hassawi Okra (*Hibiscus esculentus*) seedlings. American journal of plant physiology 6 (6): 269-282.
- Baath. E, 1992:** Measurement of heavy metal tolerance of soil bacteria using thymidine incorporation into bacteria extracted after homogenization-centrifugation, J. Soil Biology and Biochemistry. 24 1167-1172.
- Baize, 1997:** Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols de France. Versailles, Inra Editions.408 p.
- Baker, Walker, 1990:** Ecophysiology of metal up take by tolerant plants. In J.

## Références bibliographiques

---

Shaw (Ed). Heavy Metal Tolerance in plants: Evolutionary aspects. CRC Press, Boca Raton, Florida, p155-178.

**Beckett, P.H.T., 1989:** The use of extractants in studies on trace metals in soils, sewage sludges, and sludge-treated soils. In: Stewart, B.A. (Ed.). Advances in soil science, Vol. 9. Springer-Verlag, New York, pp. 143-176.

**Belkheiri, 2007:** Adaptabilité des espèces du genre *Atriplex* aux conditions de salinité et d'aridité, Tesi di Dottorato in Agrometeorologia ed Ecofisiologia dei Sistemi Agrari e Forestali, Università di Sassari p 42.

**Benaceur M., Rahmoun C., Sdiri H., Medahi M. et Selmi M., 2001 :** Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production des grains de blé. Sécheresse, 12 (3): 167-174.

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

**Béraud, 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.

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

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

**Ben Hassine A. et Bouzid S, 2008 :** Evaluation des capacités de résistance d'*Atriplex halimus* L. face au cadmium. Geo-Eco-Trop, 32: 17 – 20.

**Bernhard et al., 1986:** The importance of chemical speciation in environmental process, Springer-Verlag p7-14.

**Bernard, 1997:** Effects of heavy metals in the environment on human health. In Contaminated soils- 3<sup>rd</sup> International Conference on the biochemistry of trace elements. Paris, France : INRA. p21-34.

**Blanchard, 2000:** Caractérisation de la mobilisation potentielle des polluants inorganiques dans les sols pollués. Thèse Chimie, spécialité Sciences et Techniques du Déchet. L .France : INSA de Lyon, p301.

## Références bibliographiques

---

**Bousaba R., 2001 :** Effets d'une contrainte abiotique (stress hydrique) sur la plante et les composantes de la graine de *Vicia faba* L. (légumineuses). Thèse. Les bases biologiques de la production végétale. pp 43-54.

**Bousba R., Ykhlef N., Djekoun A., 2009:** Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum* Desf). *World Journal of Agricultural Sciences* 5. 5: 609 -616.

**Brignonet al., 2005:** Les substances dangereuses prioritaires de la directive cadre sur l'eau. Fiches de données technico économiques. Rapport final, INERIS DRC-MECO-2004-59520. (2005).

**Brümmer et al., 1986:** Heavy metal species, mobility and availability in soils, *J. Zeitschrift fuer Pflanzenernaehrung und Bodenkunde*. 149 382-398.

**Brunet J, 2008 :** Adaptation aux métaux lourds d'une Fabacee (legumineuse) : Reponses phénologique et moléculaire au plomb du *Lathyrus sativus* L. Thèse de doctorat, Université Paris Est, p231.

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

**Chaves et al., 2008:** Photosynthesis under Drought and Salt Stress: Regulation Mechanisms from Whole Plant to Cell *Ann. Bot*; **28**, mcn125v1.

**Chakraborty U., Duta S. and Chakraborty B.N., 2002:** Responses of tea plants to water stress. *Biologica Plantarum*;45 (4):557-562.

**Charltzoulakis K, 1999:** Changes in water relations photosynthesis and leaf anatomy induced by intermittent drought in two olives cultivars. University of Aristotle. Greece. *Environment and experimental botany*; 42: 113- 120.

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

**Cheng, 2003:** Effects of heavy metals on plants and resistance mechanisms. *Environmental Science and Pollution Research* 10 (4), 256-264.

**Cheverry C., 1995 :** Plant behaviour in saline environnement. Action eau N°4, Séance spécialisée du 22 mars 1995; Ed. Acad. agro, Paris, France, 49 pages.

**Chorfi A., 2009 :** Contribution à l'étude de la résistance à la salinité chez une variété de blé dur algérien (*Triticum durum* desf.) var mohamed ben bachir. *Sciences et Technologie C – N°29*, pp. 41-44.

## Références bibliographiques

---

- Citeau. L, 2004:** Etude des colloïdes naturels présents dans les eaux gravitaires de sols contaminés : relation entre nature des colloïdes et réactivité vis-à-vis des métaux (Zn, Cd, Pb, Cu). Thèse de doctorat de l'Institut National d'Agronomie Paris-Grignon (INA-PG).
- Classen W. (2005).** Proline on mesure of stress in tomato plants. *Plants Sciences*; 168:241-248.
- Cordovilla. M.P., Ligerio. F., Lluch. C., 1996:** Growth and nitrogen assimilation in nodules in response to nitrate levels in *Vicia faba* under salt stress. *Journal Of Experimental Botany*.V 47, n° 295, p. 203-210, February 1996.
- Cotelle, 1999 :** Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures. Metz: Université de Metz. 179 p.
- Darmendrail, et al., 2000 :** Fonds géochimique naturel : État des connaissances à l'échelle nationale. BRGM/RP-50518-FR, 93 p.
- Debez et al., 2001:** Leaf H<sup>+</sup>-ATPase activity and photosynthetic capacity of *Cakile maritima* under increasing salinity. *Environ Exp Bot* **57**:285–295.
- Degrassi and Rizzoni, 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.
- Delgado et al., 1993:** Nitrogen fixation and carbon metabolism by nodules and bacteroids of pea plants under sodium chloride stress, *Physiol. Plant* ;**89** : p 824–829.
- Deneux-Mustin et al., 2003:** Mobilité et transfert racinaires des éléments en traces : influence des micro-organismes du sol. *TEC & DOC, Paris.geochemistry*, 18, 1723-1731.
- Denden M., Bettaieb T., Salhi A. et Mathlouthi M. (2005).** Effet de la salinité sur la fluorescence chlorophyllienne, la teneur en proline et la production florale de trois espèces ornementales, *Tropicultura*, Vol. 23, No. 4 : 220-225.
- Devi et Prasad, 1999:** Membrane lipid alterations in heavy metal exposed plants. In: Prasad, M.N.V. & Hagemayer, J. (Eds.). *Heavy metal stress in plants: From molecules to ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 99-116.
- De Marco et al. 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.
- Dietz et al., 1999:** Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants. In: Prasad, M.N.V. & Hagemayer, J. (Eds.). *Heavy metal stress in plants: From molecules to ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 73-97.

## Références bibliographiques

---

- Duan et al., 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.
- Duc, 1997:** Faba bean (*Vicia faba* L.). *Field Crops Research.* 53: 99-109.
- Dridi et al., 2011:** Caractérisation phéno-morphologique de quelques lignées de fève (*Vicia faba* L.) sélectionnées et adaptées aux conditions de cultures dans les régions arides en Tunisie. *Africa focus.* 24 (1): 71-94.
- El Midaoui et al., 2007:** Reponse of sunflower (*Helianthus annuus*) to nitrogen and potassium dificenty. *Helia.* 22, p.139-148
- Envans, 1989:** Chemistry of metal retention by soil, *J. Environ Sci Technol.* 23 1046-1056.
- Espiau. P, 1994:** Le complexe absorbant. In M Bonneau and B. Souchier (Edition), *Pédologie, tome II, Constituants et Propriétés du Sol.* Paris, France: Masson. p489-510.
- Fageria, et al., 2002:** Micronutrient cultures, Fageria production adv. *Agron. New York.* 77 189-272.
- Ferrara et al., 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.
- Florence and G. E. Batley, 1980:** Chemical speciation in natural waters, A review. *Critical Reviews. Analy. Chem.* 9(3) 219-296.
- Florence, 1982:** Speciation of trace elements in waters, *Talanta* 29 345-364.
- Florence et Batley, 1977:** Determination of the chemical forms of trace metals in natural waters, with special reference to copper, lead, cadmium and zinc, *Talanta.* 24 (1977) 151-158.
- Foy et al., 1978:** The Physiology of metal toxicity in plants, *J. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 29 (1978) 511-566.
- Ghanem et al., 2008:** Hormonal changes during salinityinduced leaf senescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L., J., *Exp. Bot.*; **59**: p 3039 - 3050.
- Gallais et bannerot, 1992 :** Amélioration des espèces végétales cultivées: objectifs et critères de sélection. Paris: Inra.
- Gaujous, 1993:** La pollution des milieux aquatiques: aide-mémoire. *Technique et documentation*, Ed Lavoisier, Paris.
- Gepts et al., 2005:** Legumes as a model plant family. *Genomics for food and feed report of the cross legume advances through genomics conference.* *Plant Physiology.* 137: 1228-1235.

## Références bibliographiques

---

**Geological. U.S, 1984:** Represents analyses from soils and other surficial materials from throughout the continental United States (regoliths including desert sands, sand dunes, loess deposits, and beach and alluvial deposits containing little or no organic matter.

**Hamadache, 2003 :** Effet de l'environnement, de la date de semis et du désherbage sur le rendement en grain et ses composantes chez la fève (*Vicia faba* L.). Céréaliculture. No. 29: 15-18.

**Hamadache A, Ait-Abdallah F, Belloula B, 1996 :** Effet de l'environnement, de la date de semis et du désherbage sur le rendement en grain et ses composantes chez la fève (*Vicia faba* L.). Céréaliculture. No. 29: 15-18.

**Hart, 1981:** Trace metal complexing capacity of natural waters a review, J. Environ. Technol. Letters. 2 (1981) 95-110.

**Hasegawa et al., 2000:** Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51, n463-499.

**Hassani A., Dellal A., Belkhodja M. et Kaid- Harche M. (2008).** Effet de la salinité Sur L'eau et Certains Osmolytes Chez L'orge (*Hordeum Vulgare*) European Journal of Scientific Research. Vol.23 No.1, pp.61-69.

**Haouala et al., 2007:** Effet de la salinité sur la répartition des cations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$ ) et du chlore ( $\text{Cl}^-$ ) dans les parties aériennes et les racines du ray-grass anglais et du chiendent. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 11 (3) ,235 - 244.

**Hedaya A K, 2008:** Lead Accumulation and its Effect on Photosynthesis and Free Amino Acids in *Vicia faba* Grown Hydroponically. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2(3): 438-446.

**Hernández-Ochoa I., García-Vargas G., López-Carrillo L., Rubio-Andrade M., Morán- Martínez J., Cebrián M.E. and Quintanilla-Vega B, 2005:** Low lead environmental exposure alters semen quality and sperm chromatin condensation in northern Mexico. Reproductive Toxicology. 20 (2): 221-228.

**JohnR; Ahmad P; Gadgil K; Sharma S, 2008:** Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. . Plant Soil Environ., 54 (6): 262-270.

**Katembe et al., 1998:** Effect of Salinity on germination and seedling growth of two Atriplex species Chenopodiaceae. Ann Bot ; 82:165.

**Kanaya et al., 1994:** *Vicia faba* chromosomal aberration assay. Mutat. Res.-Fundam. Mol. Mech. Mutag. 310(2):231-247.

## Références bibliographiques

---

- Kawasaki et al., 2001:** Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. *Plant Cell* **13**: p 889–905.
- Khan M.H and Panda S.K., 2008:** Alterations in root lipid peroxidation and anioxidative reponses in two rice cultivars ubder NaCl- Salinty stresse, *Acta physiol plant*,30,90- 89.
- Koppen and Verschaeve, 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.
- Kurban et al., 1999:** Effect of salinity on growth, photosynthesis and mineral composition in leguminous plant Alhagi pseudoalhagi. *Soil Sci. Plant Nutr*; **45**: p 851–862.
- Laamari M, Hebbel S, 2006 :** Les principaux insectes ravageurs de la fève dans la région de Biskra. *Recherche Agronomique.* 18 : 72-78.
- Lauchli I et Epstein E., 1990:** Plant response to saline conditions. In Tanji KK (ed), vol. 6, p. 66-71. Volume 12, Numéro 3, 167-74.
- Laumonnier, 1979:** Cultures légumières et maraîchères, Tome III. Ed.J.B. BAILLIERE, 276p.
- Leclerc, 1999 :** Ecophysiologie végétale – publications univ. Saint Etienne p 188- 235.
- Lebreton et al. 2009:** La féverole d’hiver, chambre d’agriculture de l’Orne, 10p.
- Logan et Traina, 1993:** Trace metals in agricultural soils. In *Metals in groundwater*, Edition Lewis Publishers; p309-347.
- Longstreth et Nobel, 1979:** Salinity effects on leaf anatomy. *Plant Physiol.* **63**, 700-703.
- Marcato-Romain et al., 2009:** New direct contact approach to evaluate soil genotoxicity using the *Vicia faba* micronucleus test. *Chemosphere* 77(3):345-350.
- Marcel, 2002:** Larousse agricole. Ed Larousse. Canada. 768 pp.
- Marcos. L, 2001 :** Etude expérimentale et modélisation du transfert du zinc et du plomb dans les milieux sableux modèles. Thèse de doctorat du Laboratoire Central des Ponts et Chaussées (LCPC).
- Munns, 2002:** The significance of atwo-phase growth response to salinity in wheat and barley. *Australian Journal of Plant Physiology* 22, 561–56.
- Maillard, 2001:** Le point sur l’Irrigation et la salinité des sols en zone sahélienne. Risques et recommandations. *Handicap International.* Novembre 2001, 34 p.
- Mathon, 1985 :** Liste de plantes utiles avec indication de leur aire probable de primo domestication. Faculté des sciences de l’université de Poitier. 17p
- Maatougui, 1996 :** Situation de la culture des fèves en Algérie et perspectives de relance. *Céréaliculture.* No. 29: 6-18.

## Références bibliographiques

---

- Marcato, 2007:** Origine, devenir et impact du cuivre et du zinc des lisiers porcins. Rôle de la digestion anaérobie.
- Mezni M., Albouchi A., Bizid E. et Hamza E., 2002 :** Effet de la salinité des eaux d'irrigation sur la nutrition minérale chez trois variétés de luzerne pérenne (*Medicago sativa*). Agro. 22,283–291.
- Munns , 2002 :** Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environ **25**: 239–250.
- Munns, 2006:** Comparative physiology of salt and water stress; Plant, Cell and Environment 25, 239–250.
- Munns et Rawson, 1999:** Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environ **25**: 239–250.
- M'barek et al., 2001:** Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grains de quelques variétés maghrébines de blé. Inst Nati de Reche Agro de Tunisie. Sécheresse Volume 12, Numéro **3**, 167-74.
- Morales et al., 1992:** Effects of combined NaCl and CaCl<sub>2</sub> salinity on photosynthetic parameters of barley grown in nutrient solution. Physiol. Plant; **86**: p 419-426
- Miquel.M, 2001 :** Rapport sur les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. N° 2979 Assemblée Nationale, N°261 Sénat.
- Mckenzie.A B, 1997:** Isotope evidence of the relative retention and mobility of lead, and radiocesium in swtish ombrophic peats. The science of the total environment, vol.203,2, p. 115-127.
- McLaughlin et al., 2000:** Soil testing for heavy metals Communication in Soil Sciences and Plant Analysis. 1661-1700.
- Mohan .D, Pittman C.U., P.H. Steele Jr, 2006:** Colloid Interface Sci. 297 489–504.
- Mohan .D, Singh K.P, 2002:** Water Res. 36 2304–2318.
- Naseem.R et Tahir.S, 2001:** Removal of Pb(II) from aqueous/acidic solutions by using bentonite as an adsorbent. Wat. Res., 33(11) 3982–3986.
- Nieboer, Richardson, 1980:** The remplacement of the descript term "Heavy Metals" with biologically and chemically significant classification of metal ions, J. Environ Pollution. 1 3-26.
- Nieman, 1965:** Expansion of bean leaves and its suppression by salinity. Plant Physiol. 40, 156.

## Références bibliographiques

---

- Académie des sciences, 1998:** Contamination des sols par les éléments en trace : les risques et leur gestion. Rapport 42.
- Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S., 2004:** Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews* 3(1): 173-193
- Pagenkopf et al., 1974:** Effect of complexation on toxicity of copper to fishes, *J. Fish. Res. Board Can.* 31 462-465.
- Parida et al., 2003:** Effect of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove *Brugueira parviflora*. *Trees- Struct.Funct.* **18** :167-174.
- Parida A., Das A.B., and Das P., 2002:** NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera arvijlora*, in hydroponic cultures. *J. Plant Biol.* 45, 28–36.
- Pessarakli et al., 1989:** Protein synthesis in grean beans under salt stress with two nitrogen sources, *J. Plant Nutr;***12** : p 261-1377.
- Pearson, 1963:** Physical and inorganic chemistry: hard and soft acids and bases, *J. Am. Chem. Soc.* 85 3533-3539.
- Pédro and A-B. Delmas, 1970 :** Les principes géochimiques de la distribution des éléments traces dans les sols, *J. Ann. Agron.* 21(5) 483-518.
- Péron, 2006 :** Références. Production légumières. 2<sup>ème</sup> Ed. 613 p.
- Pourrut B ; Perchet G; Silvestre J; Cecchi M; Guiresse M; Pinelli E, 2008 :** "Potential role of NADPH-oxidase in early steps of lead-induced oxidative burst in *Vicia faba* roots." *Journal of Plant Physiology* 165(6): 571-579.
- Qureshi M; Israr M; Abdin MZ; Iqbal M, 2005:** "Responses of *Artemisia annua* L. to lead and salt-induced oxidative stress. *Environmental and Experimental Botany* 53(2): 185-193.
- Reddad Z, et al ,2002 :** *Environ. Sci. Technol.* 36 2067 -2073.
- Redondogomez et al., 2008:** Growth and Photosynthetic Responses to Salinity of the Salt-marsh Shrub *Atriplex portulacoides* *Ann. Bot;* **100**: p 555 - 563.
- Sang and Li 2004:** Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba* *Mutat. Res.-Genet. Toxicol. Environ. Mutag.* 560(2):159-165.
- Schuhmacher, et al., 1995:** .Levels of metals in soils and vegetation in the vicinity of a municipal solid waste incinerator.
- Sharma, S.S., Dietz, K.-J., 2009:** The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. *Trends Plant Sci.* 14, 43–50.

## Références bibliographiques

---

- Siama F., 1986 :** Intervention des racines dans la sensibilité ou la tolérance à NaCl des plantes cultivées. *Agronomie*, 6 : 651-658.
- Slama A., Ben Salem M., Ben Naceur M., Zid E.D., 2004:** Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. Institut national de la recherche agronomique de Tunisie (Inrat). Univ. Elmanar. Tunisie.
- Smith et al., 1998:** Arsenic in the soil environment, a review, *Adv Agron.* 64 149-195.
- Stumm et al., 1970:** Aquatic chemistry, an introduction emphasizing chemical equilibria in natural waters. John Wiley, London. p583.
- Singh et Chatrath, 2001:** Salinity Tolerance. Crop Improvement Division, Central Soil Salinity Research Institute, Karnal, 132 001 (Haryana), India.
- Thomas, 2008:** La féverole confirme son intérêt. *Techniques culturales simplifiées* N°48. 4<sup>ème</sup> édition. 102p.
- Vamerali, T., Bandiera, M., Mosca, G., 2010:** Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environ. Chem. Lett.* 8, 1–17.
- Veeresh. H., 2003:** Sorption and distribution of adsorbed metals in the soils of india applied.
- Verma S; Dubey RS, 2001:** Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biol. Planta.* 44: 117-123.
- Vijayarengan, Mahalakshmi, 2013:** Zinc toxicity in tomato plants. *World Appl. Sci. J.* 24, 649–653.
- Wang H-F, Zong X-X, Guan J-P, Yang T, Sun X-L, Ma Y, Redden R, 2012:** Genetic diversity and relationship of global faba bean (*Vicia faba* L.) germplasm revealed by ISSR markers. *Theor Appl Genet.* 124: 789-797.
- Zaghouane, 1991:** The situation of faba bean (*Vicia faba* L.) in Algeria. *Options Mediterranean's.* N°. 10: 123-125.
- Zerrad W., Hillali S., Mataoui B., S. EL Antri S., et Hmyene A., 2006 :** Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur. *Congrès International de Biochimie, Agadir :* 371-376.
- Zerihun, 2006:** Symbiotic and phenotypic diversity of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* isolates (*Vicia faba*) from Northern Gondar, Ethiopia. An MSc Thesis, School of Graduate Studies, Addis Ababa University, Addis Ababa, 73pp.
- Zid, Grignon C, 1991:** Les test de sélection précoce pour la résistance des plantes au stress. Cas de stress salin et hydrique. *L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides.* pp.91-108.

## Références bibliographiques

---

**Zhu, 2001:** plant salt tolerance. *Plant sciences*, university of Arizona.pp : 66-71.

**Annexe**

## Annexe

### Cuivre

#### chlorophylle A

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	3250052	47	69150,05				
VAR.FACTEUR 1	603769,8	2	301884,9	237,99	0		
VAR.FACTEUR 2	1758974	3	586324,6	462,226	0		
VAR.INTER F1*2	841643,5	6	140273,9	110,584	0		
VAR.RESIDUELLE 1	45665,25	36	1268,479			35,616	5,90%

#### chlorophylle A+B

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	4824128	47	102641				
VAR.FACTEUR 1	966362	2	483181	510,32	0		
VAR.FACTEUR 2	2517296	3	839098,7	886,229	0		
VAR.INTER F1*2	1306384	6	217730,7	229,96	0		
VAR.RESIDUELLE 1	34085,5	36	946,82			30,77	4,10%

#### chlorophylle B

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	246241,2	47	5239,175				
VAR.FACTEUR 1	55224,7	2	27612,35	42,42	0		
VAR.FACTEUR 2	71848,92	3	23949,64	36,793	0		
VAR.INTER F1*2	95734,45	6	15955,74	24,513	0		
VAR.RESIDUELLE 1	23433,14	36	650,921			25,513 17,35%	

#### Caroténoïde

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	417319,3	47	8879,135				
VAR.FACTEUR 1	85109,88	2	42554,94	384,813	0		
VAR.FACTEUR 2	275555,2	3	91851,74	830,592	0		
VAR.INTER F1*2	52673,16	6	8778,859	79,385	0		
VAR.RESIDUELLE1	3981,094	36	110,586			10,516	6,00%

**proline feuille**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	110469,8	47	2350,422				
VAR.FACTEUR 1	35557,07	2	17778,54	389,93	0		
VAR.FACTEUR 2	66141,43	3	22047,14	483,552	0		
VAR.INTER F1*2	7129,945	6	1188,324	26,063	0		
VAR.RESIDUELLE 1	1641,391	36	45,594			6,752	5,18%

**proline racine**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	33404	47	710,724				
VAR.FACTEUR 1	11938,22	2	5969,112	265,847	0		
VAR.FACTEUR 2	11497,34	3	3832,445	170,686	0		
VAR.INTER F1*2	9160,129	6	1526,688	67,994	0		
VAR.RESIDUELLE1	808,315	36	22,453			4,738	6,84%

**long racine**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2228,263	47	47,41				
VAR.FACTEUR 1	383,585	2	191,792	45,145	0		
VAR.FACTEUR 2	956,947	3	318,982	75,083	0	2,061	7,25%
VAR.INTER F1*2	734,789	6	122,465	28,826	0		
VAR.RESIDUELLE1	152,943	36	4,248				

**protéine racine**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	16119,63	47	342,971				
VAR.FACTEUR 1	2250,771	2	1125,386	39,741	0		
VAR.FACTEUR 2	9352,037	3	3117,346	110,084	0		
VAR.INTER F1*2	3497,382	6	582,897	20,584	0		
VAR.RESIDUELLE1	1019,443	36	28,318			5,321	14,05%

### protéine feuille

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	53161,71	47	1131,1				
VAR.FACTEUR 1	15308,84	2	7654,422	148,546	0		
VAR.FACTEUR 2	32792,05	3	10930,68	212,127	0		
VAR.INTER F1*2	3205,781	6	534,297	10,369	0		
VAR.RESIDUELLE1	1855,043	36	51,529			7,178	9,92%

### sucré feuille

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	
VAR.TOTALE	191311,6	47	4070,459				
VAR.FACTEUR 1	78294,98	2	39147,49	1446,141	0		
VAR.FACTEUR 2	75072,41	3	25024,13	924,413	0		
VAR.INTER F1*2	36969,66	6	6161,609	227,615	0		
VAR.RESIDUELE1	974,531	36	27,07			5,203	

### sucré racine

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	41610,58	47	885,331				
VAR.FACTEUR 1	17132,01	2	8566,003	768,374	0		
VAR.FACTEUR 2	16721,42	3	5573,806	499,973	0		
VAR.INTER F1*2	7355,818	6	1225,97	109,97	0		
VAR.RESIDUELLE 1	401,336	36	11,148			3,339	7,40%

### Teneur relative en eau RWC

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	8678,766	47	184,655				
VAR.FACTEUR 1	4153,298	2	2076,649	78,467	0		
VAR.FACTEUR 2	2637,895	3	879,298	33,225	0		
VAR.INTER F1*2	934,82	6	155,803	5,887	0,00025		
VAR.RESIDUELLE1	952,752	36	26,465			5,144	9,00%

## Zinc

### chlorophylle A

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2813531	47	59862,35				
VAR.FACTEUR 1	561885,5	2	280942,8	502,038	0		
VAR.FACTEUR 2	1461240	3	487080	870,401	0		
VAR.INTER F1*2	770259,3	6	128376,5	229,406	0		
VAR.RESIDUELLE 1	20145,75	36	559,604			23,656	3,59%

### chlorophylle A+B

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	4486174	47	95450,51				
VAR.FACTEUR 1	813143,3	2	406571,6	478,758	0		
VAR.FACTEUR 2	2260241	3	753413,5	887,181	0		
VAR.INTER F1*2	1382218	6	230369,7	271,271	0		
VAR.RESIDUELLE 1	30572	36	849,222			29,141	3,58%

### chlorophylle B

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	227331,5	47	4836,841				
VAR.FACTEUR 1	23474,27	2	11737,13	19,65	0		
VAR.FACTEUR 2	90054,36	3	30018,12	50,255	0		
VAR.INTER F1*2	92299,66	6	15383,28	25,754	0		
VAR.RESIDUELLE 1	21503,27	36	597,313			24,44	15,86%

**caroténoïde**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	345075,2	47	7342,024				
VAR.FACTEUR 1	69258,34	2	34629,17	300,531	0		
VAR.FACTEUR 2	203341,7	3	67780,58	588,237	0		
VAR.INTER F1*2	68326,92	6	11387,82	98,83	0		
VAR.RESIDUELLE 1	4148,156	36	115,227			10,734	5,45%

**long racine**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2521,454	47	53,648				
VAR.FACTEUR 1	1449,895	2	724,947	118,39	0		
VAR.FACTEUR 2	612,888	3	204,296	33,363	0		
VAR.INTER F1*2	238,228	6	39,705	6,484	0,00012		
VAR.RESIDUELLE 1	220,443	36	6,123			2,475	7,99%

**proline feuille**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	72772,04	47	1548,341				
VAR.FACTEUR 1	18466,38	2	9233,189	268,797	0		
VAR.FACTEUR 2	41143,69	3	13714,56	399,259	0		
VAR.INTER F1*2	11925,37	6	1987,562	57,862	0		
VAR.RESIDUELLE 1	1236,602	36	34,35			5,861	4,89%

**proline racine**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	31426,56	47	668,65				
VAR.FACTEUR 1	7909,859	2	3954,93	125,166	0		
VAR.FACTEUR 2	15067,98	3	5022,66	158,957	0		
VAR.INTER F1*2	7311,215	6	1218,536	38,564	0		
VAR.RESIDUELLE 1	1137,512	36	31,598			5,621	8,57%

**protéine feuille**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	48392,64	47	1029,631				
VAR.FACTEUR 1	20566,31	2	10283,15	300,267	0		
VAR.FACTEUR 2	24698,36	3	8232,787	240,396	0		
VAR.INTER F1*2	1895,09	6	315,848	9,223	0		
VAR.RESIDUELLE 1	1232,883	36	34,247			5,852	6,82%

**protéine racine**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	13519,24	47	287,643				
VAR.FACTEUR 1	1466,394	2	733,197	33,581	0		
VAR.FACTEUR 2	7017,121	3	2339,04	107,131	0		
VAR.INTER F1*2	4249,716	6	708,286	32,44	0		
VAR.RESIDUELLE 1	786,007	36	21,834			4,673	11,75%

**sucres feuille**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2569,892	47	54,679				
VAR.FACTEUR 1	1365,857	2	682,928	265,866	0		
VAR.FACTEUR 2	888,63	3	296,21	115,316	0		
VAR.INTER F1*2	222,933	6	37,155	14,465	0		
VAR.RESIDUELLE 1	92,473	36	2,569			1,603	3,60%

**sucre racine**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1241,839	47	26,422				
VAR.FACTEUR 1	467,459	2	233,73	133,907	0		
VAR.FACTEUR 2	406,079	3	135,36	77,55	0		
VAR.INTER F1*2	305,464	6	50,911	29,168	0		
VAR.RESIDUELLE 1	62,837	36	1,745			1,321	5,50%

**RWC**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	5051,08	47	107,47				
VAR.FACTEUR 1	1179,965	2	589,983	27,376	0		
VAR.FACTEUR 2	1673,449	3	557,817	25,883	0		
VAR.INTER F1*2	1421,826	6	236,971	10,996	0		
VAR.RESIDUELLE 1	775,839	36	21,551			4,642	7,71%