

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة
Université MOULAY Tahar, Saida



كلية العلوم
Faculté des Sciences
قسم البيولوجيا
Département de Biologie

Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat classique

Spécialité : Biologie

Thème

Modifications Physiologiques, Biochimiques et cytogénétiques observées chez l'orge soumises à un stress salin et métallique (Cd, pb)

Présenté par : **Hammou bakhta**

Soutenu le : 08/10/2025

Devant le jury composé de :

Président	SLIMANI Miloud	Professeur	Université de Saida - Dr. Moulay Tahar
Examinatrice	GHOMARI Samia	Professeur	Ecole Supérieure d'Agronomie de Mostaganem
Examinateur	CHAA Lahouari	Professeur	Université des Sciences et de la Technologie d'Oran – Mohamed-Boudiaf
Directeur de thèse	HACHEM Kadda	MCA	Université de Saida - Dr. Moulay Tahar

Année universitaire 2024/2025

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة
Université MOULAY Tahar, Saida



كلية العلوم
Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا
Département de Biologie

Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat classique

Spécialité : Biologie

Thème

**Modifications Physiologiques, Biochimiques et cytogénétiques
observées chez l'orge soumises à un stress salin et métallique (Cd, pb)**

Présenté par : **Hammou bakhta**

Soutenu le : 08/10/2025

Devant le jury composé de :

Président	SLIMANI Miloud	Professeur	Université de Saida - Dr. Moulay Tahar
Examinatrice	GHOMARI Samia	Professeur	Ecole Supérieure d'Agronomie de Mostaganem
Examineur	CHAA Lahouari	Professeur	Université des Sciences et de la Technologie d'Oran – Mohamed-Boudiaf
Directeur de thèse	HACHEM Kadda	MCA	Université de Saida - Dr. Moulay Tahar

Année universitaire 2024/2025

Remerciements

C'est avec plaisir que je réserve cette page en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

*Je tiens tout d'abord à remercier **Dieu** le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force, la volonté et la patience d'accomplir ce modeste travail*

*Je tiens à exprimer ma gratitude au Directeur de cette thèse, **professeur Kadda Hachem** pour son accueil et sa patience.*

*Je voudrais adresser mes remerciements au Melle **Chikhi amira***

Je tiens à remercier tous les membres du jury, qui m'ont fait l'honneur d'étudier attentivement mon travail :

*le **Professeur SLIMANI Miloud** pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury le **Professeur GHOMARI Samia** et le **Professeur CHAA Lahouari** qui ont bien voulu participer au jury en tant qu'examineurs.*

*Ce travail étant le fruit de nombreuses collaborations et contributions, J'exprime mes sincère remerciement a ma copines **Dr Zghada Fatima Zohra et sa sœur sarra** , pour son accueil, sa générosité et pour la réalisation des dosages quantitatifs de mes échantillons au sein de son laboratoire de biochimie végétale de l'université d'oran*

***M^{eme} ABDDAIM** pour ces conseil cytogénétique*

*Sans oublier d'exprimer ma profonde gratitude à mon très cher conjoint, **Dr Yakoubi aïssa** pour leur soutien constant, tendresse et amour.*

Je remercie également mes étudiants ali, boubakeur , sarra , aïcha et Assia pour leur aide, Amel pour leurs encouragements et la réalisation des études statistiques. Merci encore à ceux que je n'ai pas cité et qui ont

également contribué à rendre ces années distrayantes, mouvementées et particulièrement enrichissantes.

Liste des abréviations

8-oxo-dG	: 8-hydroxyguanine
APX	: Ascorbate peroxidase
BBC	: Bleu brillant de Coomassie
BSA	: sérum d'albumine bovine
CaCO₃	: carbonate de calcium
CAT	: Catalase
CDPK	: Calcium-Dependent Protein Kinases, 5a
DTPA	: Diethylenetriaminepentaacetic acid
EDTA	: éthylènediaminetétraacétique
ERO	: espèce réactive de l'oxygène
GPX	: Guaiacol peroxidase
GR	: glutathione reductase
H₂O₂	: peroxyde d'hydrogène
HKT	: High-affinity K ⁺ transporter
HNO₃	: acide nitrique
HOAc	: Acetic acid
HSP	: heat shock protein
INRAA	: Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie
ITGC	: Institut Technique de Gestion des Cultures
MAP kinases	: Mitogen-activated protein kinases
NADPH	: nicotinamide-adénine-dinucléotide phosphate
NH₄NO₃	: Nitrate d'ammonium
NH₄OAc	: Acétate d'ammonium
NHX	: Na ⁺ /H ⁺ antiporter
RBOH	: Respiratory Burst Oxidase Homolog, 5b
RLK	: Receptor like kinase
ROS	: Reactive oxygen species
SLAC	: Slow anion channels
SOD	: Superoxide dismutase
SOS1	: Salt overly sensitive
TTPB	: Teaching tools in Plant Biology
ZIP	: zinc/iron-regulated transporter-like proteins

Liste des tableaux

Tableau 1: Variétés d'orge cultivées en Algérie	10
Tableau 2: Propriétés du cadmium	35
Tableau 3: Principales propriétés physico-chimiques du plomb	36
Tableau 4: Conception expérimentale	48
Tableau 5: indice mitotique	68

Liste des figures

Figure 1: Stades de développement d'orge.....	6
Figure 2: description de l'orge	7
Figure 3: Caryopse d'orge	11
Figure 4: Schéma des voies de signalisation en réponse à un stress abiotique perçu	14
Figure 5: Impact du Na ⁺ sur le fonctionnement cellulaire des plantes en condition de stress salin	16
Figure 6: Mécanismes et stratégies cellulaires de tolérance à la salinité (NaCl) chez les plantes.....	18
Figure 7: Schéma général du fonctionnement des ERO (ROS) dans une cellule végétale.....	20
Figure 8: cycle et devenir des métaux lourds dans l'environnement.....	23
Figure 9: Différents mécanismes altérant la division cellulaire et la croissance suite à un stress métallique par le Cd et le Pb	27
Figure 10: Coupe transversale de racine, avec le passage des ions selon les voies symplastiques et apoplastiques	29
Figure 11: Transporteurs impliqués dans la compartimentation des ETM.....	31
Figure 12: Formation d'un pont chromosomique et d'un fragment durant l'anaphase ou la télophase après cassure double brin de la chromatine et de sa « mauvaise » réparation.....	40
Figure 13: Les différents types de phytoremediation.....	42
Figure 14: sélection des gaines d'orge pour la mise en culture dans des boîtes pétri.....	47
Figure 15: Variation des taux de germination finale en fonction des traitements après 15jour de germination	54
Figure 16: Variation de la croissance racinaire en fonction des traitements après 15jour de germination.....	56

Figure 17: Variation de la croissance aérienne en fonction des traitements après 15jour de germination.....	58
Figure 18: Aspects morphologiques de plantules d'orge après 15jour de traitement par différentes concentrations de Cd, Pb et NaCl.	59
Figure 19: Variations des teneurs en chlorophylles a, b et totales (mg/g) dans les feuilles d'orge.....	60
Figure 20: Evolution des teneurs en sucres solubles totaux des tissus de la partie racinaire.....	62
Figure 21: Evolution des teneurs en protéine totaux.....	63
Figure 22: Teneur en Pb et Cd dans les parties racinaire de Raihane . sous l'interaction Plomb-NaCl, Cd-NaCl ou Pb,Cd seul	65
Figure 23: Teneur en Pb et Cd dans les parties aérienne de Raihane sous l'interaction Plomb-NaCl, Cd-NaCl ou Pb,Cd seul	66
Figure 24: Index mitotique (IM %) des cellules méristématiques d'Orge traitées(T1,T2,T3et T4) comparé aux cellules du témoin (T0).	68
Figure 25: Différentes phases mitotiques normales (T0), a : prophase, b : métaphase, c : interphase, e : anaphase et f : télophase. G*40.....	69
Figure 26: Deux stade de division normales a : prophase, c : métaphase G*100.....	69
Figure 27: T1 Induction des chromosomes adhérents ("stickiness") au niveau de la zone méristématique racinaire d'orge après 48 h d'exposition à des concentrations de 137,2mM de NaCl.....	70
Figure 28: Induction des chromosomes adhérents ("stickiness") au niveau de la zone méristématique racinaire d'orge après 48 h d'exposition à des concentrations de 137,2mM de NaCl	71
Figure 29: Induction des micronoyaux après 48 h d'exposition des extrémités racinaires d'orge à une concentrations de 2mM de Pb et 137,2mM de NaCl.....	71
Figure 30: Cellules en division cellulaire anormale après 48 h de traitement des extrémités racinaires d'orge par 1mMCd (A : vides nucléaires, B : Cassure en métaphases)	71

Figure 31: Cellules en division cellulaire anormale après 48 h de traitement des extrémités racinaires d'orge par 137,2Mm de NaCl (A : Chromosomes retardataires , B : C-mitose)	72
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Liste des communications

Publication internationale :

Bakhta Hammou, Amira Chikhi, Amel Sidi-Ikhlef, Kadda Hachem
PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL VARIATIONS IN BARLEY
(RAIHANE VARIETY) TOWARDS SALINE AND METALLIC CONSTRAINTS
(Pb AND Cd). *Fresenius Environmental Bulletin*.

Résumé

Après avoir été longtemps dépendante des pesticides, l'agriculture mondiale est aujourd'hui frappée par un courant qui favorise des pratiques plus durables et plus respectueuses de l'environnement. Pour répondre à ces nouvelles exigences, les agriculteurs doivent se tourner vers l'exploitation et la rentabilisation des ressources naturelles par le biais de pratiques agricoles combinant la performance et la protection des cultures à un moindre coût écologique. Dans ce contexte, le développement de molécules biologiques capables de stimuler les défenses naturelles des végétaux et la dépollution des sols est une stratégie qui attire de plus en plus l'attention.

Notre objectif de recherche est de tester la relation entre le stress salin et métallique sur le comportement des plantes. Pour illustrer ce travail plusieurs paramètres seront testés :

- 1- Paramètres physiologiques : pourcentage de germination, de croissance...etc.
- 2- Paramètres biochimiques : dosage de chlorophylle, de sucre soluble.....etc
- 3- Paramètre chimique : dosage des métaux lourds (Cd et Pb)
- 4- Paramètres cytogénétiques : les anomalies chromosomiques.

Après 15 jours de germination, le taux de germination de l'espèce Raihane n'a pas affecté par la salinité et les métaux lourds (79,80 et 89%), la combinaison de sel avec le Cd et le Pb a faiblement augmenté ce taux (90 et 99%) par rapport au témoin. Les effets de toxicité ont été plus marqués sur les paramètres biochimiques. Toutefois, les ETM testés ont augmenté le taux de chlorophylle a, b et total, alors que la combinaison Cd/NaCl et Pb/NaCl améliorent ce même taux. En outre ils ont réduit légèrement la teneur relative en sucre et protéine totales. L'étude cytogénétique a démontré une diminution de l'indice mitotique au cours du traitement quelque soit la dose de métal ou NaCl utilisée. Cette diminution est hautement significative ($p < 0.001$), avec la révélation plusieurs aberrations chromosomiques. Parmi ces aberrations chromosomiques, nous avons :

Des métaphases et anaphases anormales. Des cellules comportant des chromosomes dont la structure est altérée (clastogénicité). Dans ce cas, on a pu détecter la présence des chromosomes adhérents ("stickiness") et des chromosomes retardataires. Nous avons détecté aussi la présence de cellules à deux micronoyaux et à des vides nucléaires.

Notre étude montre que l'accumulation de Cd et du Pb dans les feuilles et les racines de la variété Raihane augmente en fonction de la présence de NaCl dans le milieu. Lors de cet essai, Raihane a accumulé dans les parties racinaires plus de Pb (BCF = 2,58) que de Cd (BCF

= 0,04). L'ensemble de ces résultats ont permis de suggérer que la variété Raihane est plus recommandée pour les zones contaminées par les ETM.

Mots clés : Stress salin ; Stress métallique ; Orge ; Sucre soluble ; protéine ; Bioaccumulation

Abstract

After having been dependent on pesticides for a long time, global agriculture is today hit by a trend that favors more sustainable and more environmentally friendly practices. To meet these new requirements, farmers must turn to the exploitation and profitability of natural resources through agricultural practices combining performance and crop protection at a lower ecological cost. In this context, the development of biological molecules capable of stimulating the natural defenses of plants is a strategy which is attracting more and more attention.

Our research objective is to test the relationship between salt and metal stress on plant behavior. To illustrate this work several parameters will be tested:

- 1- Physiological parameter: percentage of germination, growth..... ect .
- 2- Biochemical parameter: dosage of chlorophyll , soluble sugar and total proteins
- 3- Chemical parameter: dosage of heavy metals (Cd and Pb)
- 4- Cytogenetic parameter: chromosomal abnormalities.

After 15 days of germination, the germination rate of the Raihane species was not affected by salinity and heavy metals (79.80 and 89%), the combination of salt with Cd and Low dose Pb increased this rate (90 and 99%) compared to the control. The toxicity effects were more marked on biochemical parameters. However, the ETMs tested increased the level of chlorophyll a, b and total, while the Cd/NaCl and Pb/NaCl combination improved this same level. In addition, they slightly reduced the relative content of sugar and total protein. The cytogenetic study demonstrated a reduction in the mitotic index during treatment regardless of the dose of metal or NaCl used. This reduction is highly significant ($p < 0.001$), with the revelation of several chromosomal aberrations. Among these chromosomal aberrations, we have:

Abnormal metaphases and anaphases. Cells containing chromosomes whose structure is altered (clastogenicity). In this case, we could detect the presence of stickiness and lagging chromosomes. We also detected the presence of cells with two micronuclei and nuclear voids.

Our study shows that the accumulation of Cd and Pb in the leaves and roots of the Raihane variety increases depending on the presence of NaCl in the medium. During this test, Raihane accumulated more Pb (BCF = 2.58) than Cd (BCF = 0.04) in the root parts. All of these results suggested that the Raihane variety is more recommended for areas contaminated by ETM.

Keywords: *Hordeum vulgare* (L.), Salt stress, Metal stress, chlorophyll, Soluble sugar, protein, Bioaccumulation

ملخص

لضفي اهاجتا مويلا قيماعلا عارزلا مجاوت ،تليوط قرتفل قيرشلا تادييما لىء دمتعت تناك نأ دعب او هجتين أن نيعراز ملا لىء بجيد ،ةديدجلا تابلطتلا مذهب تيبلتلو .تنيبلا تقادص رثكاو ةمادتسا رثكا تاسرامم لىصاحملا تيامحو ءادلا نيب معجة قيعارز تاسرامم ل لاخ نم اهتيحبرو تيعيبطلا دراوملا ل لاغتسا لىء زيفحت لىء قرداق تيجولويد تائيزج ريوطة بجيد ،قاييلا اذه ي فو .(2012 ، ريغص ن ب) لقأ تنيبي تفلكتب تاتابنلا تيعيبطلا تاعافلا أولا ثم المساعدة على تنقية التربة من المعادن السامة ثانيا تيجيتارتسا ي هو مامتهلا ن م ديزملاو ديزملا بدتجت

حيضوتل .تاتابنلا لكولس لىء نداعملاو ي حلملا داهجلا نيب تقلالما رابتخا وه ي ثحبلا انفده نم ديدعلا رابتخا متيسل معلا اذهالعوامل:

- 1- العوامل خلل... ومنلا ،تاتابنلا قيسن :تيجولويسفلا
- 2- العوامل تيلكلا تانيتوربلاو نابونلا لباقلا ركسلاو ليفورولكلا ةعرج :تنياميكيبيلا
- 3- العوامل (Cd و Pb) تليقتلا نداعملا ةعرج :تنياميكيلا
- 4- العوامل تاموسوموركلا تاهوشن :تبولخلا تيثارولا

بعد 15 يوم من الإنبات، لم يتأثر معدل الإنبات لصنف الريحان بالملوحة والمعادن الثقيلة (79.80 و 89%)، كما أن مزيج الملح مع الكاديوم والرصاص أدى إلى ارتفاع معدل الإنبات (90 و 99%) مقارنة بالشاهد. وكانت آثار السمية أكثر وضوحا على المعايير البيوكيميائية. ومع ذلك، أدت أجهزة قياس التفاعل التي تم اختبارها إلى زيادة مستوى الكلوروفيل أ، ب والإجمالي، في حين حسنت مجموعة الكاديوم/كلوريد الصوديوم والرصاص/كلوريد الصوديوم هذا المستوى نفسه. بالإضافة إلى ذلك، فقد خفضوا بشكل طفيف المحتوى النسبي للسكر والبروتين الكلي أظهرت الدراسة الوراثة الخلوية انخفاضاً في مؤشر الانقسام الفتيلي أثناء العلاج بغض النظر عن جرعة المعدن أو كلوريد الصوديوم المستخدمة مع الكشف عن العديد من الانحرافات الصبغية. ومن بين هذه الانحرافات الكروموسومية، لدينا:

الطور الاستوائي والطور الانفصالي غير الطبيعي. الخلايا التي تحتوي على الكروموسومات التي تم تغيير بنيتها (التكاثر). في هذه الحالة، يمكننا اكتشاف وجود الالتصاق والكروموسومات المتأخرة. اكتشفنا أيضاً وجود خلايا تحتوي على نواتين صغيرتين وفراغات نووية.

أظهرت دراستنا أن تراكم الكاديوم والرصاص في أوراق وجذور صنف الريحان يزداد تبعاً لوجود كلوريد الصوديوم في الوسط. وخلال هذا الاختبار، تراكم صنف الريحان كمية أكبر من الرصاص (معامل

التراكم البيولوجي = 2.58) من الكاديوم (معامل التراكم البيولوجي = 0.04) في أجزاء الجذر. وتشير كل هذه النتائج إلى أن صنف الريحان أكثر ملاءمة للمناطق الملوثة بـ ETM.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد الملحي الإجهاد المعدني شعير؛ سكر قابل للذوبان بروتين؛ التراكم

الحيوي

Table des matières

PARTIE I. INTRODUCTION	xvii
PARTIE II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	2
II.1 Présentation de l'espèce étudiée : l'orge	5
II.1.1 Origine et classification de la plante	5
II.1.2 Cycle de vie de l'Orge.....	6
II.1.3 Description et Aspects génétique	7
II.1.4 Importance d'utilisation d'orge comme modèle expérimentale en biologie.....	7
II.1.5 L'orge en Algérie	8
II.1.5.1 Production de l'orge en Algérie :	8
II.1.5.2 Principales variétés d'orge cultivées en Algérie	9
II.1.6 Composition biochimique et valeurs nutritives de l'orge	10
II.2 Influence du stress abiotique sur le développement des plantes	12
II.2.1 Qu'est qu'un stress ?	12
II.2.2 Perception du stress et signalisation cellulaire	13
II.2.3 Stress salin.....	15
II.2.3.1 Définition du stress salin	15
II.2.3.2 Toxicité de l'ion Na ⁺ dans les cellules végétales	16
II.2.3.3 Mécanismes et stratégies cellulaires de tolérance à la salinité (NaCl) chez les plantes.....	17
II.2.3.3.1 Exclusion d'ions	17
II.2.3.3.2 Séquestration vacuolaire	18
II.2.3.3.3 L'ajustement osmotique	19
II.2.3.3.4 Les antioxydants.....	20
II.2.4 Les éléments traces métalliques (EMT)	20
II.2.4.1 Définition	20

II.2.4.2 Origine des ETMs	21
II.2.4.3 Notion de phytodisponibilité des EMTs.....	21
II.2.4.4 Répartition et devenir des métaux lourds dans l'environnement	23
II.2.4.5 Répartition des métaux lourds dans les sols.....	24
II.2.4.6 Facteurs modifiant la mobilité des éléments métalliques.....	24
II.2.4.7 La toxicité des EMTs	26
II.2.4.7.1 Effets d'ETM sur la santé.....	26
II.2.4.7.2 Effet d'ETM sur les végétaux	26
II.2.4.8 Le transport et l'accumulation des ions métalliques dans la plante	28
II.2.4.9 Accumulation dans les différents organes des plantes	29
II.2.4.10 Les réactions de défense des plantes contre les EMTs.....	29
II.2.4.11 Le cadmium (Cd)	34
II.2.4.12 Le plomb (Pb).....	35
II.2.5 Cytogénétique et génotoxicité	37
II.2.5.1 Définition.....	37
II.2.5.2 Les lésions géniques.....	38
II.2.5.3 Les lésions chromosomiques.....	38
II.2.5.4 Le test d'aberrations chromosomiques.....	39
II.2.5.4.1 Les délétions terminales ou les pertes de télomères.....	40
II.2.5.4.2 Les adhérences de chromosomes ou "stickiness"	40
II.2.5.4.3 Les chromosomes vagabonds isolés ou les anaphases de type « étoile »	41
II.2.5.5 Importance des essais de génotoxicité sur les plantes.....	41
II.3 Phytoremédiation	41
II.3.1 Généralités sur la phytoremédiation.....	41
II.3.1.1 la phytoextraction	42

II.3.1.2 la phytostabilisation.....	43
PARTIE III. MATERIEL ET METHODES.....	5
III.1 Matériel végétal	47
III.2 Paramètres mesurés.....	48
III.2.1 Paramètres morphologiques	48
III.2.1.1 Taux de germination	48
III.2.1.2 Longueur moyenne des racines et feuilles	49
III.2.2 Paramètres biochimiques	49
III.2.2.1 Détermination des concentrations des pigments photosynthétique	49
III.2.2.2 Détermination des concentrations des sucres solubles totaux.....	49
III.2.2.3 Détermination des concentrations des protéines totaux.....	49
III.2.3 Paramètres chimiques	50
III.2.4 Paramètres Cytogénétiques	50
III.3 Analyse statistique	52
PARTIE IV. RESULTATS ET DISCUSSION	42
IV.1 Effet du Cd, Pb et NaCl sur les paramètres morphologiques	54
IV.1.1 Taux de germination	54
IV.1.2 Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl, Cd et Plomb) sur l'élongation de la partie racinaire	55
IV.1.3 Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl, Cd et Plomb) sur l'élongation de la partie aériennes.....	58
IV.2 Effet du Cd, Pb et NaCl sur les paramètres biochimiques.....	60
IV.2.1 Impact d'un traitement au cadmium et plomb associé à un stress salin sur la synthèse chlorophyllienne chez l'orge.....	60
IV.2.2 Impact d'un traitement au cadmium et plomb associé à un stress salin sur la synthèse des sucres solubles chez l'orge.....	62

IV.2.3 Effet du Cd, Pb et Nacl seul et combiné sur la teneur en protéine totale	63
IV.3 Effet du Cd, Pb et Nacl sur les paramètre chimiques	65
IV.3.1 Bioaccumulation du Plomb et du Cd dans les parties racinaires et aériennes.....	65
IV.4 Effet de Cd, Pb et Nacl sur les paramètre cytogénétiques	67
IV.4.1 Effets de Cd, Pb et Nacl sur la variation de l'indice mitotique	67
IV.4.2 Effets de Cd, Pb et Nacl sur l'induction d'aberrations chromosomiques.....	70
PARTIE V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	82
PARTIE VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	53

PARTIE I. INTRODUCTION

Introduction

La contamination par les métaux lourds et la salinisation devraient être les problèmes environnementaux les plus critiques (**Gabrijel Ondrasek, 2013**). Dans de nombreuses régions du monde, la pollution en métaux lourds est devenue une préoccupation de santé publique. Les multiples activités industrielles, agricoles et minières, ainsi que les eaux usées souvent mal ou non traitées provenant d'innombrables cités contribuent pour une part essentielle à cette pollution. Outre cela, certains sols, selon leurs origines géologiques et suite à l'érosion progressives des roches, contiennent de grandes quantités de métaux lourds (nickel, cadmium, zinc et plomb par exemple) qui les rendent stériles et impropres à toute production agricole ou maraîchère. Dans le pire des cas, ces polluants métalliques se retrouvent dans les eaux des ruissèlements qui contaminent à leur tour les rivières et les nappes phréatiques, pour terminer dans la chaîne alimentaire avec toutes les conséquences néfastes que cela représente pour notre santé (**Yan Chim et al., 2018**).

En même temps A l'heure actuelle, environ 25 % de toutes les terres sont salines. C'est dans les régions arides et semi-arides que le degré de salinité est le plus élevé (**Valentina et al., 2010**). En effet, l'excès de sel dans le sol affecte la germination, la croissance des plantules et leur vigueur, la phase végétative, la floraison et la fructification à des degrés variables conduisant à terme à des baisses de rendement et de qualité des productions (**Lachhab et al., 2013**).

En Algérie, l'orge (*Hordeum vulgare L.*) est connue pour son importance agronomique et socioéconomique. C'est une espèce très adaptée au système des cultures pratiquées en zones arides; semi-arides voire salées ou d'altitude (**Bonjean et Piccard, 1990**). Cette adaptation est liée à un cycle de développement court et à une vitesse de croissance appréciable au début de cycle (**Bouzarzour et Monneveux, 1992**). Du fait de sa rusticité l'orge supporte les sols pauvres et les températures basses **Ceccarelli et al., (1992)**. De par ces caractéristiques, cette culture s'insère bien dans les milieux caractérisés par une grande variabilité climatique où elle constitue avec l'élevage ovin l'essentiel de l'activité agricole locale (**Somel, 1990**).

La phytoremédiation fait référence à l'utilisation in situ des plantes et des microorganismes associés pour dégrader, contenir ou rendre inoffensifs les contaminants dans l'environnement (**Ayotamuno et al., 2016**). Elle peut être utilisée pour l'élimination de divers polluants organiques (hydrocarbures et pesticides) et inorganiques (métaux lourds) (**Rezanian et al., 2015**).

Dans certaines études, les plantes dites métallophytes, ont la capacité d'accumuler divers métaux lourds toxiques dans leurs parties végétatives et reproductrices. Les plantes combattent la toxicité des métaux lourds de différentes manières. Après de nombreuses décennies d'utilisation intensive de produits phytosanitaires organiques de synthèse, le constat est alarmant tant sur le plan de la pollution environnementale que sur celui des désordres écologiques. la question fondamentale se résume donc à ceci : **est-il possible d'envisager, au XXI^e siècle, une agriculture sans pesticides ?** S'il est difficile de répondre à cette question par l'affirmative, nous pouvons en revanche affirmer que l'agriculture de demain aura recours à des pratiques innovantes, issues du développement de nouvelles approches permettant de minimiser la pollution environnementale tout en préservant les rendements

Dans ce cadre s'inscrit notre étude qui vise à déterminer l'influence de métaux lourds (Cd et Pb), seul et combinés au NaCl sur certains paramètres physiologiques, biochimiques, chimiques et cytogénétiques sur l'Orge, afin de constater leur effets sur les plantes et de trouver des solutions naturelles de dépollution des sols en Algérie.

PARTIE II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

II.1 Présentation de l'espèce étudiier : l'orge

II.1.1 Origine et classification de la plante

L'orge commune (*Hordeum vulgare* L.) provient de la plante sauvage *Hordeum pontaneum*. Plusieurs découvertes faites dans le Croissant fertile indiquent que l'orge a été domestiquée il y a 10 000 ans et est considérée comme l'une des cultures fondatrices de l'agriculture de l'Ancien Monde (**Badr et al., 2000**). Des études récentes relatent qu'elle serait plutôt originaire des régions montagneuses d'Ethiopie et d'Asie du sud-est (**Paquereau, 2013**), trouvant sa trace au Proche-Orient au moins 7 000 ans et en Éthiopie il y a près de 10 000 ans (**Botineau, 2010**). Au Sahara elle était cultivée dans les oasis 100-300 av. J. -C (**Brink et Belay, 2006**). La plupart des céréales appartiennent à la famille des Graminées (ou Poacées).

L'orge est classée selon les types printemps ou hiver (sensible au gel ou au contraire résistant au froid environ jusqu'à -15°C), sa classification est basée sur la fertilité des épillets latéraux, la densité de l'épi et la présence ou l'absence des barbes (**Rasmusson, 1992**).

On y distingue deux types selon la forme de leur épi :

- a) L'orge à 2 rangs ou l'orge distique : a un épi aplati composé de 2 rangées d'épillets fertiles, un sur chaque axe du rachis, entouré de 4 épillets stériles. Dans ce type existent surtout des variétés de printemps.
- b) L'orge à 6 rangs ou orge hexastique : encore appelé exourgeon, à une section rectangulaire, sur chaque axe du rachis les 3 épillets sont fertiles. Dans ce type n'existent pratiquement que des variétés d'hivers (**Soltner, 2005**).

Selon, **Reddy et al., (2004)**, **Soderstrom (1987)** et **Renvoize et Clayton, (1986)** l'orge cultivée appartient à la classification botanique suivante :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Sous Classe : Commelinidae

Ordre: Poales

Famille : Poaceae

Sous famille : Hordeoideae

Tribu : Hordeae

Sous Tribu : Hordeinae

Genre : *Hordeum*

Espèce : *Hordeum vulgare* L

II.1.2 Cycle de vie de l'Orge

Il existe plusieurs échelles créées par des chercheurs ; pour caractériser les stades de développement de l'orge comme celle de Zadoks, et celle de Feekes. La meilleure échelle et la plus utilisée par les agronomes et les physiologistes est celle de Zadoks (**Zadoks et al., 1974**).

Les stades de développement (**Figure 1**) des orges comprennent les phases suivantes :

La levée : la phase qui suit la germination des graines, caractérisée par l'allongement de la racine principale et des racines séminales, et donc l'émergence du coléorhize, suivit de l'apparition de la coléoptile. Vient par la suite la phase du début de tallage qui est caractérisée par l'apparition de la première feuille, qui parte du plateau de tallage, suivie de l'émergence des autres feuilles et leur croissance. Cette phase dépend de la température. Les feuilles continuent à croître, puis il y a émission d'une ramification définie par la formation des bourgeons sous chaque première feuille. Ensuite, il y a l'apparition des talles primaires, secondaires et tertiaires, jusqu'au stade fin tallage. La phase qui suit le tallage est appelée : montaison. Elle se fait en conditions de vernalisation (basses températures pour arriver à épiaison) et de photopériode (pour la différenciation des méristèmes en organes végétatifs), caractérisée par la formation des parties florales glumes et lemme, puis le gonflement de la gaine de la dernière feuille.

En fin de la phase de montaison, paraît la phase d'épiaison (de la sortie des barbes à la sortie de tous les épis), et finalement la phase de la formation et maturation des grains (aux différents stades : laiteux, pâteux, grain dur, et grain mûr) (**Boyardieu, 1997**).

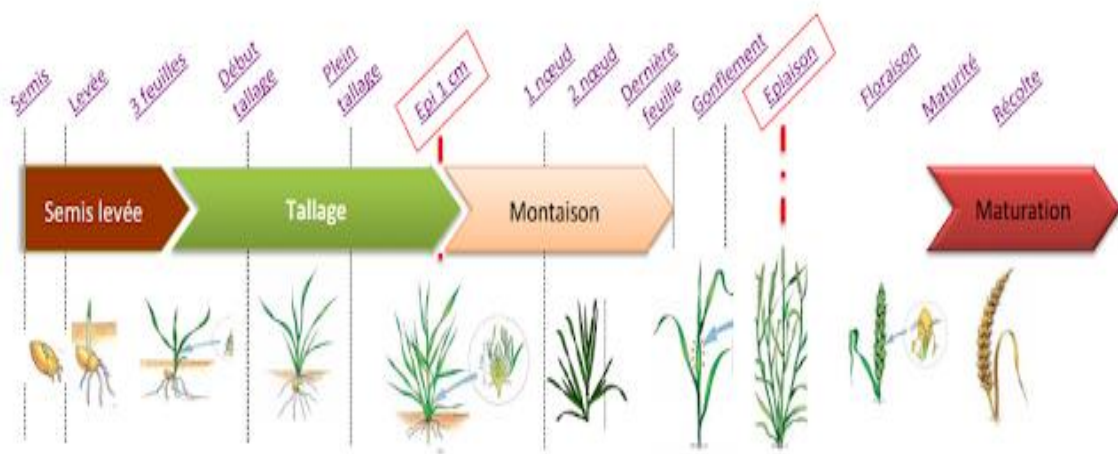


Figure 1: Stades de développement d'orge

II.1.3 Description et Aspects génétique

C'est une plante herbacée saisonnière à tige dressée qui peut atteindre 1,2m de hauteur. Les feuilles sont longues, étroites et rugueuses à nervation parallèle (**Figure 2**). Les épis se développent aux extrémités des tiges, ils portent des graines bien rangées et de couleur jaunâtre.

L'orge cultivée est une espèce autogame, connue sous le nom scientifique de *Hordeum vulgare* L. Le genre *Hordeum* appartient à la tribu des Triticeae, famille des Poaceae (Gramineae), il inclut 32 espèces connues, largement distribuées à travers le monde. Ce genre comprend des espèces diploïdes ($2n=2x=14$), tétraploïdes ($2n=4x=28$), et hexaploïdes ($2n=6x=42$). Bien que la majorité soit de la première catégorie (**Briggs, 1978**), le génome de l'orge a été bien caractérisé par la génétique classique et cytogénétique, plus de 1000 gènes sont connus (**von Wettstein-Knowles, 1992**).

Une cartographie comparative entre le génome de l'orge et celui des autres espèces de la famille des Triticeae montre que les chromosomes 1 à 7 de l'orge sont les homologues des chromosomes 7H, 2H, 3H, 4H, 1H, 6H, 5H respectivement, des autres espèces de cette famille (**Linde-Laursen et al., 1997**)

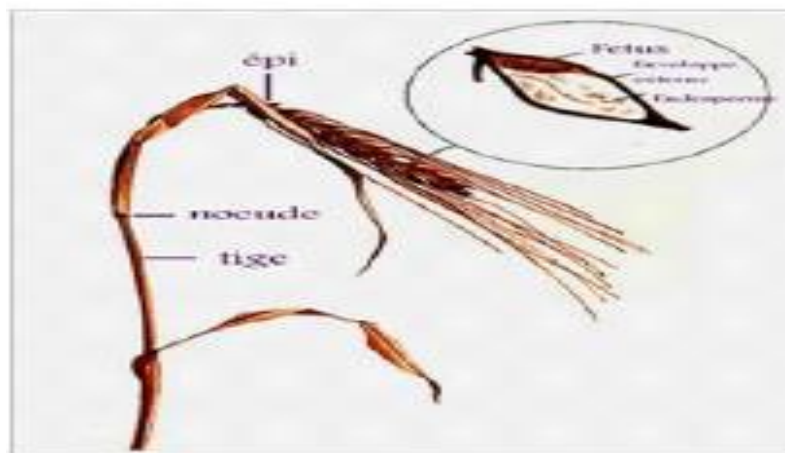


Figure 2:description de l'orge

II.1.4 Importance d'utilisation d'orge comme modèle expérimentale en biologie

L'orge joue un rôle crucial dans l'agriculture en raison de sa large gamme d'utilisations, à l'échelle mondiale et par ordre d'importance, il est utilisé en alimentation du bétail, pour le maltage (notamment en brasserie) et en alimentation humaine. Dans les régions tropicales et subtropicales, c'est surtout pour l'alimentation humaine qu'elle est produite (**Ceccarelli et Grando, 2006**). Il représente toutefois une importante ressource énergétique en alimentation

animale (orge de monture) mais pauvre en protéines, qui demande à être complétée par des molécules azotées (**François et Gaudry, 2016**).

L'orge occupe une place importante parmi les espèces fourragères. Par sa production en vert, en foin (en association avec d'autres espèces), en ensilage et par son grain et sa paille, c'est l'élément clé de toute la production fourragère en Algérie (**INRAA, 2006**) et même dans le monde où la production mondiale a augmentée de 14 Mt en 2019-2020 pour s'établir à 154,6 Mt, d'après le CIC. La germination de l'orge est étudiée depuis des décennies dans le but de prédire et d'optimiser l'industrie du maltage. C'est devenu un modèle important pour l'étude de la germination des graines (**Daneri-Castro et coll, 2016**). En outre Le faible nombre de chromosomes et la facilité de croisement renforcent l'utilité de l'orge comme un modèle biologique pertinent (**Saisho et Takeda, 2011**).

Dans son étude faite sur l'orge, **Fundazioa, (2012)** a démontré les capacités de l'orge à s'adapter aux changements climatiques. De leur côté, **Dawson et al., (2015)** estiment que les travaux faits de par le monde sur l'orge comme plante modèle fournissent un environnement favorable pour relever les défis du changement climatique.

Les objectifs suivis dans les programmes de sélection et d'amélioration génétique de l'orge sont semblables à ceux du blé. Le fait que les populations d'orge spontanées possèdent une plus grande amplitude de variabilité génétique, en comparaison au blé, a permis d'établir une gamme plus étendue de variétés cultivées adaptées à des conditions climatiques et édaphiques plus extrêmes (**Simpson et al., 2001**). En outre L'orge est une espèce très adaptée aux systèmes de cultures pratiqués en zones sèches. Cette adaptation est liée à un cycle de développement plus court et à une meilleure vitesse de croissance en début du cycle. La culture de l'orge s'insère bien dans les milieux caractérisés par une grande variabilité climatique où elle constitue avec l'élevage ovin l'essentiel de l'activité agricole (**Bouzerzour et al., 1998 ; Abbas et Abdelguerfi, 2008**).

II.1.5 L'orge en Algérie

II.1.5.1 Production de l'orge en Algérie :

La culture de l'Orge en Algérie occupe une place importante dans le secteur céréalier, bien qu'elle soit soumise à de fortes contraintes climatiques et techniques. L'orge est la seconde céréale cultivée en Algérie après le blé dur. Elle fait aussi partie des grandes cultures. C'est une espèce rustique, moins exigeante en matière de sol et de pluviométrie que le blé.

En Algérie, 35% de la superficie céréalière est consacrée à la culture de l'orge qui est concentrée entre les isohyètes 250 et 450 mm (**Menad et al., 2011**). Confrontée à des contraintes d'ordre climatiques et techniques, la production algérienne d'orge est faible et surtout variable dans l'espace et le temps (**Bouzerzour et Benmahammed, 1993**).

Selon **Boulal et al., (2007)** , les principales zones de production sont :

- a) **La zone semi-aride des plaines telliennes** où la pluviométrie est comprise entre 350 et 500mm avec une distribution des précipitations irrégulière (Constantine, Bouira, Tlemcen, Mila, Souk Ahras, Ain Defla, Chlef, Ain Témouchent, Sidi-Bel-Abbès).
- b) **La zone sub-aride des Hauts plateaux** caractérisée par une faible pluviométrie (200-350mm), à prédominance agro-pastorale à des altitudes supérieures à 1000m (Tissemsilt, Tiaret, Sétif, Saida, Bourdj Bou Arreridj).
- c) **La zone humide et subhumide** des régions littorales et sub-littorales Centre- Est du pays (Tipaza, Skikda, Guelma, Bejaïa, Annaba).

II.1.5.2 Principales variétés d'orge cultivées en Algérie

En 2016, la superficie totale emblavée en orge en Algérie a été de 1,236 million d'hectares avec une production totale de 9 millions de quintaux et un rendement moyen de 13 q/ha.

Selon **Boufenar et Zaghuan, (2006)** les variétés Saïda, Rihane 183 et Tichedrette sont largement distribuées en Algérie. Le recours aux autres variétés est lié à leur zone de prédilection. Certaines variétés existent mais sont peu demandées comme celles de Jaidor (Dahbia), Barberousse (Hamra), Ascad 176, (Nailia), El-Fouara. Le choix de la variété à utiliser dépend de ses caractéristiques agronomiques et de la zone de culture. Les principales variétés cultivées en Algérie sont regroupées dans le **tableau 1**.

Tableau 1: Variétés d'orge cultivées en Algérie (**Boufenar et Zaghouane, 2006**).

Variétés	Caractéristiques
Jaidor (dahbia)	A paille courte, fort tallage, bonne productivité, tolérante aux maladies et à la verse, sensible au gel.
Rihane 03	A paille courte, précoce, fort tallage, bonne productivité, à double exploitation.
Ascad 68 (Remada)	Précoce, à fort tallage et bonne productivité, tolérante aux rouilles et à la verse, adaptée aux zones des plaines intérieures.
Barberousse (Hamra)	A paille moyenne, précoce, tallage moyen, bonne productivité, tolérante à la verse, à la sécheresse et au froid.
Ascad 60 (Bahria)	A paille courte et creuse, précoce, fort tallage, bonne productivité, sensible à la jaunisse nanisante et résistante à la verse.
Ascad 176 (Nailia)	Variété précoce, résistante à la verse et tolérante à la sécheresse, sensible aux maladies (rouille brune, oïdium helminthosporiose, rhynchosporiose).
Saida 183	Variété locale, semi-tardive, à paille moyenne et creuse, tallage moyen, bonne productivité, sensible aux maladies.
Tichedrette	Variété locale, à paille moyenne, précoce, tallage moyen, bonne productivité et rustique.
El-Fouara	A paille courte ou moyenne, fort tallage, bonne productivité, tolérante au froid, à la sécheresse et à la verse, adaptée aux Hauts-plateaux.

II.1.6 Composition biochimique et valeurs nutritives de l'orge

L'herbe d'orge est un excellent antioxydant, elle favorise également la digestion et renforce l'immunité. Elle contient 45% de protéines ainsi que l'ensemble des éléments nutritifs

réclamés au quotidien par notre corps (**Le magazine bio, 2010**). Une graine complète d'orge peut constituer un aliment en soi, comme l'indique **EUFI** (2009).

Les glucides représentent environ 80% de la matière sèche des graines et sont constituées essentiellement d'amidon localisé au niveau du caryopse (**Figure 3**). Il constitue la principale source d'énergie dans les graines d'orge. La cellulose est principalement concentrée dans les glumelles (50 à 60%), les enveloppes du grain et les parois cellulaires de la couche d'aleurone. Elle représente 5 à 8% en moyenne de la matière sèche. L'orge a une teneur en matières grasses moins élevée que celle du maïs, du sorgho ou de l'avoine. Les teneurs moyennes observées varient de 1,5 à 2,5 %. Sa teneur en acide linoléique est nettement inférieure à celle du maïs et à celle de d'autres céréales. Un apport complémentaire de cet acide gras essentiel dans les aliments à base d'orge est parfois recommandé (**IAV, 1999**).

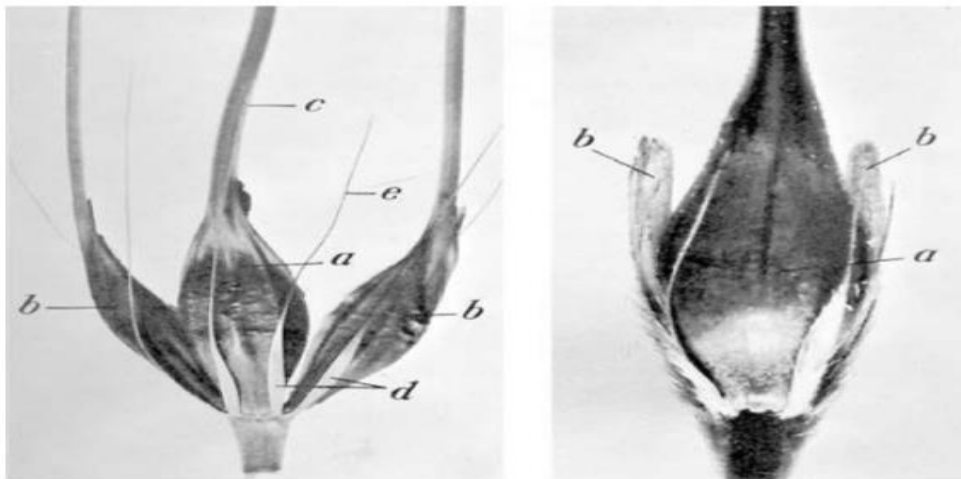


Figure 3: Caryopse d'orge (**Leonard et Martin, 1973**)

a. Caryopse central ; **b.** Caryopses latéraux ; **c.** Pointe ; **d.** Glumes ; **e.** Pointe de la glume.

L'orge demeure une céréale relativement pauvre en protéines par rapport, au blé ou au triticale mais sa teneur reste supérieure à celle du maïs. La teneur en protéines est influencée par la variété, et son mode de culture. Les protéines de l'orge présentent un profil en acides aminés mieux adapté aux besoins d'animaux que celui du maïs ou du blé (**IAV, 1999**).

Les teneurs en calcium et en sodium sont légèrement supérieures à celles du maïs. L'orge demeure une céréale relativement pauvre en ces éléments. L'orge est aussi une source de phosphore, de magnésium, de fer, de zinc, de manganèse, de cuivre et de sélénium (**Vanier et al., 2006**).

On retrouve également beaucoup de molécules antioxydantes dans l'orge ; parmi lesquelles on compte :

- La vitamine E : l'orge contient différentes variantes de la vitamine E (tocotriénols, tocophérols) (**Panfili et al., 2003**). Chez l'humain, plusieurs études ont indiqué que les effets des tocotriénols ont la capacité d'inhiber la prolifération de cellules cancéreuses, principalement celles du sein. Des études chez l'animal ont observé un effet neuroprotecteur même en très petite quantité, et cette molécule est vue comme prometteuse pour la protection des cellules cérébrales humaines.

Les composées phénoliques (flavnols) : l'orge contient plusieurs composés phénoliques (**Goupy et al., 1999 ; Bonoli et al., 2004**).

Parmi ces divers composés, les flavnols (appartenant à la famille des flavonoïdes) seraient ceux qui se trouvent en plus grande proportion dans les graines d'orge, pouvant atteindre une quantité totale d'environ 225 µg/g selon la variété de la graine (**Goupy et al., 1999**). Une étude in vitro a observé des effets bénéfiques en exposant des cellules cancéreuses à un type de flavnol extrait du son d'orge, et les auteurs de l'étude voient en cette céréale un intérêt potentiel pour contribuer à la prévention du cancer (**Tamagawa et al., 1998**).

II.2 Influence du stress abiotique sur le développement des plantes

II.2.1 Qu'est qu'un stress ?

Le mot stress est apparu autour de 1940. Il s'agissait d'un mot anglais, employé en mécanique et en physique, qui voulait dire «force, poids, tension, charge ou effort». Le français Claude Bernard fut le premier à dégager une notion physiologique du stress en 1868. Selon lui, les réactions déclenchées par le stress visent à maintenir l'équilibre de notre organisme. L'ensemble de ces réactions internes a été nommé homéostasie par le physiologiste américain C.W. **Bradford, (1915)** à partir du grec « stasis » (état, position) et homoios (égal, semblable à). Il y inclura en outre la notion de stress. Le lien stress- homéostasie-adaptation va perdurer jusqu'à nos jours et les recherches menées concernant ces processus sont à la base d'une littérature abondante. L'association de ces trois notions constitue l'approche biologique du stress et permet notamment d'expliquer dans certaines limites, l'adaptation à l'environnement, et donc au maintien de la vie (**Roeder, 2006**).

Selon **Wang et al., (2001)**, les stress se traduisent chez les plantes par des changements morphologiques et moléculaires qui affectent leur croissance et leur productivité.

D'une façon plus générale, on peut dire qu'au niveau cellulaire, un stress est causé par la variation d'un paramètre environnemental qui entraîne la mise en place des mécanismes de régulation de l'homéostasie.

Le stress peut être induit par une substance chimique ou une contrainte physique, de manière réversible ou permanente, selon que les altérations provoquées dans ces conditions disparaissent ou non, après retour à des conditions de croissance normale (**Chrétien, 1992**).

En effet les plantes se trouvent rarement dans des conditions environnementales optimales, mais elles se trouvent souvent dans des conditions extrêmes de potentiel hydrique, de température, de salinité ainsi que d'autres facteurs qui amènent les organismes à la limite de la survie (**Hopkins et al., 2003**). Les stress abiotiques sont connus depuis longtemps chez les plantes cultivées comme étant des facteurs limitant majeurs de la productivité (**Boyer, 1982 ; Balarathinasnasabathi, 2002**), ils peuvent également affecter le fonctionnement de la plante en perturbant les flux ioniques (**Knight et al., 2001**) ou en altérant les parois ou membranes cellulaires (**Zhu, 2001 ; Wang et al., 2003**). Les organismes qui vivent dans ces habitats ou ces facteurs prédominent, ont développé plusieurs adaptations.

II.2.2 Perception du stress et signalisation cellulaire

Le Mode général de fonctionnement est le suivant :

La réponse au stress se compose de plusieurs étapes :

- Perception du stress,
- Implication de récepteurs membranaires,
- Mobilisation de signaux/messagers intracellulaires,
- Transduction/transmission des signaux à des facteurs de transcription
- Modifications de l'expression des gènes (**Paes de Melo et al, 2022**).

Le schéma en Figure 4 reflète, de manière assez simplifiée, l'état général des connaissances sur les systèmes de réception et transmission des signaux. Les ERO sont clairement des acteurs incontournables, l'hydroperoxyde H_2O_2 en étant le représentant emblématique du fait de sa mobilité intracellulaire :

1. H_2O_2 peut entrer dans le cytosol par le biais d'aquaporines dédiées, appelées peroxyporines.
2. Dans le cytosol, H_2O_2 est à l'origine d'une cascade de kinases, les MAP kinases (**Pearson et al., 2001**).

3. H_2O_2 agit aussi sur des canaux du plasmalemmes permettant l'entrée de calcium (3a) et sur des récepteurs imbriqués dans la membrane plasmique (3b, RLK de l'anglais Receptor-Like Kinase).
4. La perception du signal de stress peut cependant mobiliser directement une RLK qui pourrait percevoir des changements de fluidité membranaire causés, par exemple, par des stress température (froid ou chaud excessif).
5. Le calcium et les kinases dépendantes du calcium (CDPK ou Calcium-Dependent Protein Kinases, 5a) activent une enzyme NADPH-dépendante de type NADPH oxydase, la RBOH (Respiratory Burst Oxidase Homolog, 5b), qui produit l'ion superoxyde dans l'apoplaste, aussitôt transformé en H_2O_2 .
6. Le système en boucle reliant H_2O_2 , le canal à Ca^{2+} et RBOH fonctionne comme un mécanisme de rétroaction positive synergique (**Figure 4**).

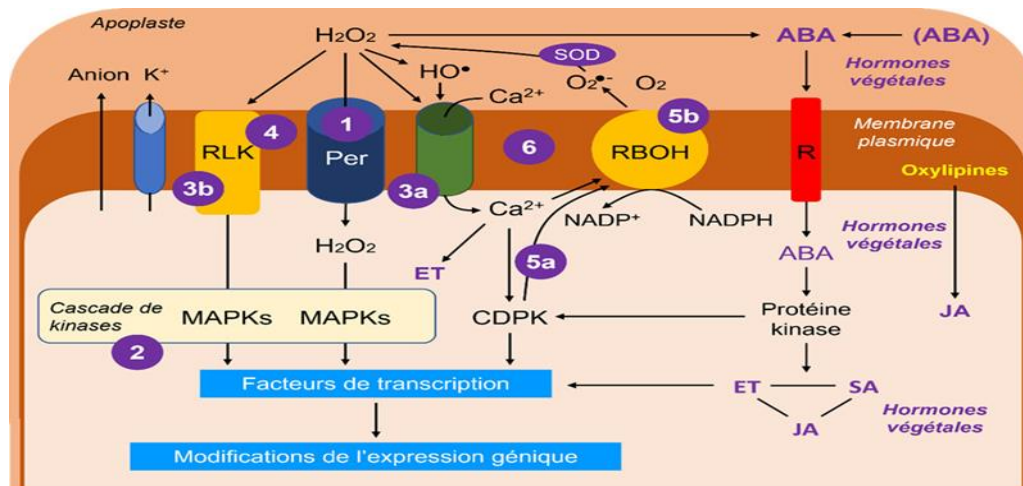


Figure 4: Schéma des voies de signalisation en réponse à un stress abiotique perçu

L'acide abscissique (ABA), qui appartient au groupe des hormones végétales, est souvent impliqué dans la perception du stress et, même s'il existe des voies ABA-indépendantes, est très souvent associé à H_2O (Kumar *et al.*, 2018).

- **ABA** peut provenir de formes conjuguées ou voir sa synthèse stimulée par H_2O_2 . ABA est reconnu par un récepteur spécifique dans la membrane plasmique et il est à l'origine d'un mécanisme le liant à la production d'autres phytohormones, l'éthylène (ET), l'acide salicylique (SA) et le jasmonate (JA).
- **Le jasmonate** peut provenir des oxylipines, produits de dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés. Il est plutôt considéré comme protecteur.

- **L'éthylène**, est une phytohormone liée à la sénescence des tissus et organes et à des mécanismes de vieillissement cellulaire tandis que l'acide salicylique est généralement associé à des effets positifs en faible concentration mais toxiques à plus forte concentration.

Ces trois phytohormones interagissent constamment et vont entretenir un dialogue croisé (cross-talk en anglais) qui aura des répercussions sur les réponses aux stress. Si l'on considère l'ABA, son rôle sera décisif dans la fermeture des stomates, qui est conditionnée par une sortie d'anions et d'ions K^+ provoquant un changement de potentiel osmotique. Mais le rôle de l'ABA est aussi important dans les cellules du mésophylle chlorophyllien.

L'ensemble des cascades de protéines kinases va activer des facteurs de transcription nécessaires à la régulation de l'expression des gènes. L'expression génique sera modifiée (stimulation et/ou répression de synthèse de protéines) en fonction des intervenants de ces cascades qui sont tributaires de l'intensité du stress.

Les chaînes de transmission des signaux peuvent présenter des spécificités partielles selon le type de stress abiotique, en particulier sécheresse, froid et salinité (**Boudsocq et Laurière, 2005**), métaux lourds (**Berni et al, 2019**), température élevée (**Mansour, 2008**) et ozone (**Hasan et al, 2021**).

II.2.3 Stress salin

II.2.3.1 Définition du stress salin

Le stress salin est défini comme étant le processus pédologique suivant lequel, le sol s'enrichit anormalement en sels solubles acquérant ainsi le caractère salin. (**Eilers et al.,1998**). Ainsi, sont appelé sols salés ceux qui sont caractérisés par la présence d'un excès de l'ion sodium échangeable dans le profil (**Da Silva, 1982**).

La salinité constitue un facteur limitant non négligeable pour l'agriculture mondiale (**Hillel, 2000**). L'effet de la salinité se manifeste généralement chez la plupart des plantes cultivées par une réduction de la croissance et le développement (**Munns et al., 1983**). Cet effet néfaste se traduit par des changements morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui affectent négativement la croissance et la productivité végétale (**Ashraf et Harris, 2004**).

II.2.3.2 Toxicité de l'ion Na^+ dans les cellules végétales

La toxicité spécifique de l'ion Na^+ pourrait être due à ses propriétés physicochimiques proches de celles du K^+ (**Potassium**). Dans tous les organismes vivants, K^+ est le principal cation inorganique du **cytosol**, où sa concentration (environ 0,1 M) est généralement plusieurs fois supérieure à celle de Na^+ . Il joue un rôle essentiel dans la physiologie de la plante. Du fait de son abondance intracellulaire, c'est le contre-ion inorganique majeur des charges négatives des protéines et des acides nucléiques, avec en particulier des fonctions d'activation de plus de cinquante réactions enzymatiques (**Bhandal et Malik, 1988**)

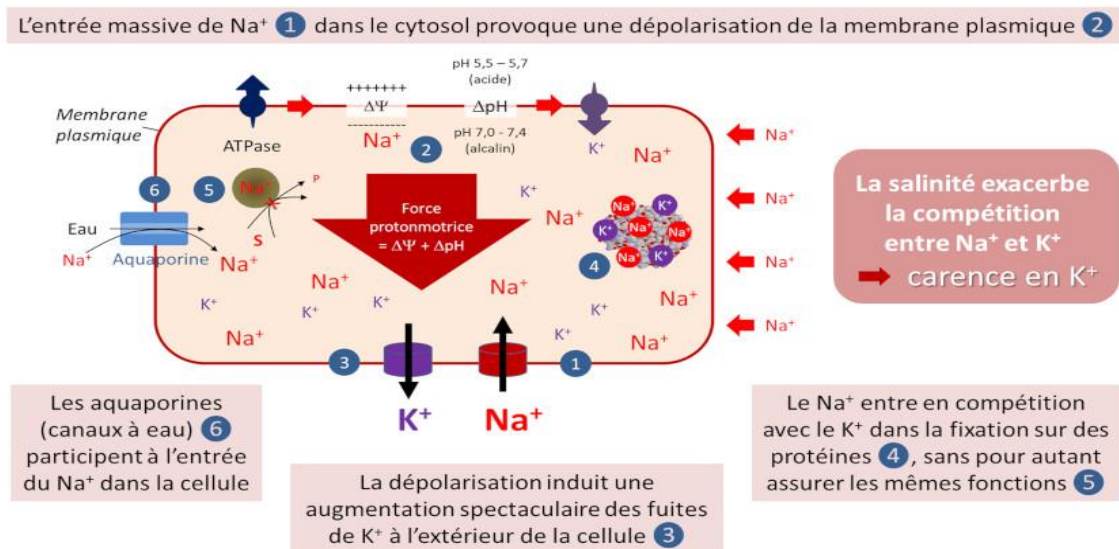


Figure 5: Impact du Na^+ sur le fonctionnement cellulaire des plantes en condition de stress salin (**TTPB,2014**)

L'entrée massive de Na^+ dans le cytosol des plantes en milieu salin conduit à une série de réactions (**Figure 5**) :

- Le Na^+ entre en compétition avec le K^+ pour l'absorption de ce dernier dans la cellule racinaire, car les deux ions sont transportés au travers de la membrane plasmique par plusieurs systèmes de transport identiques (canaux cationiques non sélectifs de type NSCC et transporteurs à haute affinité HKT) (**Amtmann et Sanders, 1999 ; Tester et Davenport, 2003**)
Ce phénomène est **exacerbé en situation de stress salin**.
- Le Na^+ a des effets délétères à la surface de la cellule, car il vient **perturber gravement la polarisation électrique** de la membrane plasmique. Cette dépolarisation conduit à une augmentation spectaculaire des **fuites de K^+** à l'extérieur de la cellule, par le biais des canaux à K^+ activés par la dépolarisation (canaux dénommés KOR).

- **Le Na⁺ entrerait en compétition avec le K⁺** dans la **fixation sur des protéines** importantes, sans pour autant assurer les mêmes fonctions que ce dernier. Un excès en Na⁺ dans le cytosol **inhiberait** ainsi **l'activité** de nombreuses **réactions enzymatiques** entraînant un dysfonctionnement cellulaire, par exemple sur l'activité photosynthétique des plantes.
- Des données récentes indiquent que les **aquaporines** (canaux à eau) de la membrane plasmique, connues principalement pour leur activité de transport d'eau et de solutés neutres, participent, elles aussi, à **l'entrée du Na⁺** dans la cellule !

II.2.3.3 Mécanismes et stratégies cellulaires de tolérance à la salinité (NaCl) chez les plantes

II.2.3.3.1 Exclusion d'ions

Dans un premier temps, la plante peut user de mécanismes d'exclusion des ions toxiques. Ces mécanismes prennent place directement au niveau de l'extrémité des racines où l'absorption se produit. Les recherches ont mis en lumière un locus nommé SOS1 (SALT OVERLY SENSITIVE) codant pour des antiports Na⁺/H⁺ situés au niveau de la membrane plasmique. SOS1 est exprimé au niveau de plusieurs régions (organes et tissus) de la plante (**Katiyar-Agarwal et al., 2006**). Des études ont révélé que ces transporteurs étaient particulièrement présents dans les cellules épidermiques de l'apex des racines (afin d'assurer une protection des cellules méristématiques) et dans les cellules parenchymateuses aux abords du xylème. Il semblerait donc que le système SOS1 (en interaction avec SOS2 et SOS3 comme régulateurs de l'activité de SOS1) soit impliqué dans l'exclusion des ions sodiums vers le sol au niveau de la plante entière. Le rôle exact du système SOS1 est assez complexe dans la mesure où des études révèlent qu'il n'agirait pas uniquement dans l'exclusion mais aussi dans le chargement du sodium vers le xylème pour stimuler le transport et la séquestration dans les feuilles (**Zhao et al., 2020 ; Shi et al., 2002**). D'autres protéines sont impliquées dans l'exclusion des ions sodiums. Ce sont les transporteurs HKT (HIGH-AFFINITY K⁺ TRANSPORTER), ceux-ci sont impliqués dans le retrait d'ions sodium du xylème afin de protéger les parties aériennes de la toxicité (**Ali et al., 2019 ; Hamamoto et al., 2015**). Aussi une famille de canaux appelée SLAC serait impliquée dans l'exclusions d'ions chlorures (**Liu et al., 2014**).

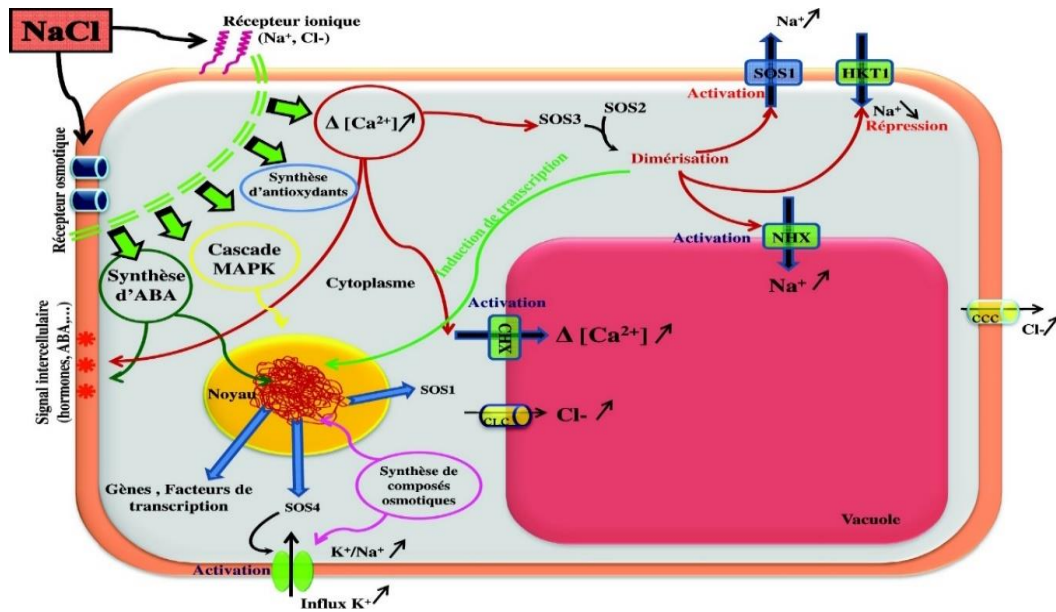


Figure 6: Mécanismes et stratégies cellulaires de tolérance à la salinité (NaCl) chez les plantes (Mahajan, 2008)

II.2.3.3.2 Séquestration vacuolaire

Un des objectifs majeurs de la plante est d'éviter que les ions toxiques ne s'accumulent dans le cytosol où ils pourraient causer de nombreux dommages (Zhao *et al.*, 2020). Pour ce faire, il existe un système de séquestration des ions sodium dans la vacuole des cellules. Celui-ci fait intervenir des antiports Na⁺/H⁺ de la famille NHX au niveau du tonoplaste (Bassil et Blumwald, 2014 ; Rodríguez-Rosales *et al.*, 2009). Néanmoins, ce système est complexe et il semblerait que ces transporteurs ne soient pas les seuls impliqués dans la séquestration des ions sodiums au sein de la vacuole. De plus, des études récentes ont montré que les transporteurs NHX présentent une grande affinité pour le potassium, supérieure à celle pour le sodium (Bassil *et al.*, 2011). D'ailleurs, les NHX jouent un rôle important dans l'homéostasie du potassium. Ceci suggère qu'il doit y avoir d'autres intervenants et mécanismes en jeu. Concernant les ions chlorure, plusieurs familles de canaux et transporteurs ont été identifiés comme les canaux à Cl⁻ de la famille CLC et les transporteurs de malate activé par l'aluminium de la famille ALMT (Wu et Li, 2019). Les CLC ont été localisés dans différentes membranes dont plusieurs au niveau du tonoplaste chez *Arabidopsis thaliana*. Ces canaux seraient impliqués dans la séquestration vacuolaire. Une étude sur *A.thaliana* a d'ailleurs montré qu'une surexpression d'un gène codant pour des canaux CLC du tonoplaste induit une plus grande accumulation d'ions chlorure dans la vacuole (Nguyen *et al.*, 2016). Des résultats similaires ont été obtenus sur d'autres espèces.

II.2.3.3.3 L'ajustement osmotique

Le stress salin peut être divisé en deux composantes cinétiques, la composante osmotique et la composante ionique. La composante osmotique est liée à un faible potentiel osmotique de la solution du sol en raison de la concentration en sels solubles. Ceci entrave l'absorption d'eau par la plante. Certaines plantes ont la capacité de remédier à ce problème en faisant ce qui s'appelle un ajustement osmotique (**Parihar et al., 2015 ; Parvaiz et al., 2013**). L'ajustement osmotique d'une plante consiste à ce que celle-ci accumule des composés appelés osmolytes dans le cytoplasme cellulaire afin de diminuer son potentiel osmotique et ainsi assurer son approvisionnement en eau (**Zhao, 2020**). En fait, il existe deux grandes stratégies d'ajustement osmotique, l'accumulation d'ions inorganiques ou la synthèse de composés organiques. Parmi les composés organiques et minéraux qui interviennent dans l'ajustement osmotique, on évoque fréquemment les nitrates, le potassium, les acides organiques, les sucres solubles et la proline (**Monneveux, 1991**). Les ions inorganiques, comme le potassium, expliquent une grande part de la variation du potentiel osmotique foliaire des plantes non stressées où la quantité de solutés organiques est relativement faible.

Ces ions n'interviennent pas significativement dans le changement du potentiel osmotique induit par le stress (**Kameli et Losel, 1996**). Sous stress hydrique, ce sont les sucres solubles, et plus particulièrement le glucose, qui contribuent le plus à l'ajustement osmotique (**Kameli et Losel, 1996**). La photosynthèse qui est vraisemblablement la source principale de solutés organiques qui s'accumulent sous stress hydrique (**Kameli et Losel, 1996**).

D'autre part Les plantes peuvent effectuer l'ajustement osmotique par accumulation d'ions inorganiques. Ce système se base généralement sur l'accumulation d'ions potassium étant donné que celui-ci est très abondant chez les plantes et non toxique. Cependant, en stress salin, l'absorption de potassium par la plante est entravée à cause de la présence compétition entre ces deux éléments (de par la similarité de leur rayon ionique). Dans ce cas, l'utilisation directement des ions sodiums et chlorures pour l'ajustement osmotique est observée chez certaines plantes résistantes. Ce système fait appel aux différents canaux et transporteurs dont nous avons discuté plus tôt (et certainement d'autres intervenants non connus). L'usage de ces ions pour cette action implique que la plante possède une régulation complexe étant donné qu'ils sont tout de même toxiques. Cette régulation doit assurer le transport et la coordination notamment avec le système de séquestration vacuolaire (**Cardoso de Lima, 2023**).

II.2.3.3.4 Les antioxydants

Le stress salin induit la formation de ROS (**Figure 7**). Ces molécules sont importantes dans la signalisation de la plante mais sont dangereuses par nature en raison de leur haute réactivité (**Ahmad et al., 2008**). Ces espèces réactives doivent être neutralisées par des molécules antioxydantes. Pour ce faire, les plantes ont développé un véritable système antioxydant mettant en œuvre différents composés comme des pigments (caroténoïdes, bétalaïnes), le glutathion, L'acide ascorbique (vitamine C) qui présente l'anti-oxydant le plus abondant dans la nature et probablement le plus puissant composé de détoxification des formes actives d'oxygène (**Ashraf, 2009**) et diverses enzymes comme la superoxyde dismutase et des catalases (**Hernandez et al., 2000**). Ce système est en activité chez de nombreuses plantes mais peut être dépassé lorsque le stress induit une trop grande formation de ROS. Une corrélation entre la stimulation de l'activité antioxydante et la tolérance au stress salin est fréquemment observée chez plusieurs espèces (**Rasool et al., 2013**).

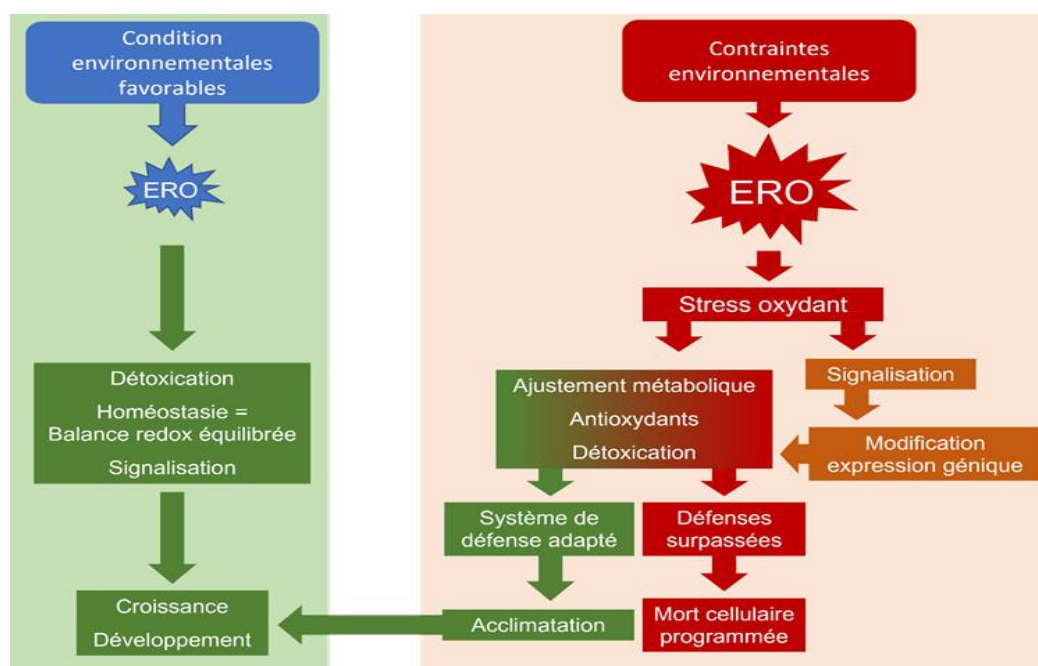


Figure 7: Schéma général du fonctionnement des ERO (ROS) dans une cellule végétale (**Noctor et al., 2018**).

II.2.4 Les éléments traces métalliques (EMT)

II.2.4.1 Définition

« Métaux lourds (MLs) » est l'appellation couramment utilisée pour désigner les micropolluants minéraux de forte masse volumique supérieure à 5 g/cm³ qui peuvent former

des sulfures (**Facchinelli et al., 2021**). Ce terme sous-entend aussi une notion de toxicité.

Cependant, le terme « éléments traces métalliques (ETMs) » tend à remplacer celle de **métaux lourds** qui a été et qui reste un concept mal défini car associant des métaux toxiques réellement lourds à d'autres l'étant moins. Dans le manuscrit, le terme ETMs est préférentiellement utilisé. On en distingue deux types en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques : métaux essentiels et métaux toxique.

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

Les métaux toxique : ont un caractère polluant avec des effets toxiques pour organisme vivants même à faible concentration, Ils n'ont aucun effet bénéfique comme pour la cellule ,c'est le cas du plomb (Pb),du mercure(Hg) ,du cadmium (Cd) (**Huynh,2009**)

II.2.4.2 Origine des ETMs

La présence de métaux lourds dans les sols peut être d'origine naturelle ou anthropique. Le sol est un milieu poreux, issu d'un processus d'altération des matériaux géologiques sous l'action combinée des êtres vivants et des processus physico-chimiques (solutions de percolation). Au cours de la formation du fond pédogéochimique, des ETMs présents naturellement dans les roches mères, sont libérés dans les sols à des concentrations naturelles qui varient selon la nature de la roche, sa localisation et son âge. A cela, s'ajoute les apports de poussières et aérosols libérés dans l'atmosphère par les activités volcaniques, les embruns marins, etc... S'ajoute à ce fond pédogéochimique les métaux d'origine anthropique, c'est-à-dire en grande partie ceux liés à l'exploitation et au traitement des minéraux, à la fabrication et l'utilisation d'engrais et de pesticides, à l'industrie chimique, aux décharges et à l'incinération de déchets ménagers et industriels, etc...

II.2.4.3 Notion de phytodisponibilité des EMTs

La notion de phytodisponibilité découle de la biodisponibilité, qui peut être définie comme « l'aptitude d'un élément à être transféré d'un compartiment du sol vers un organisme vivant (bactérie, végétal, animal, homme) » (**Baize, 1997**). Lorsque l'organisme vivant est une plante, on parle de phytodisponibilité (**Tremel-Schaub et Feix, 2005**). Selon **Hinsinger et al.**

(2005), est biodisponible pour une plante, la fraction d'un élément qui est susceptible d'être absorbée par les racines. Pour **Kabata-Pendias et Pendias (1992)**, la phytodisponibilité des éléments traces est fortement corrélée à la concentration d'espèces ioniques dans la solution du sol. Elle est également largement dépendante des propriétés du sol, de l'espèce végétale considérée et de l'élément en question.

Pour estimer la phytodisponibilité, la mobilité de l'élément ainsi que sa concentration dans la solution du sol sont des éléments déterminants, mais pas suffisants (**Loué, 1993**). En effet, certaines fractions adsorbées non spécifiquement ou faiblement complexées peuvent aussi être biodisponibles. A priori, le meilleur outil pour mesurer la biodisponibilité des éléments en trace est l'organisme lui-même. La plante devrait donc permettre de révéler la phytodisponibilité des éléments en trace dans le sol. La mesure consiste donc à déterminer la teneur en élément dans les tissus végétaux à la récolte. Cette teneur est proportionnelle, mais pas nécessairement égale à la teneur totale en élément biodisponible. Certains tests pour mesurer les effets de polluants sur les plantes ont été normalisés tels que le test de germination (AFNOR X31-201) ou de croissance (AFNOR X31-502). Ces méthodes sur les plantes s'avèrent cependant très lourdes et peu réalistes lorsqu'il s'agit de réaliser un grand nombre de mesures, mais peuvent être envisagées pour des études ciblées. Leur emploi est assez délicat dans la mesure où les tests sont longs à mettre en œuvre et sont difficilement utilisables en routine (**Marie, 2008**).

Lorsque les tests sur les plantes ne peuvent pas être mis en place, la phytodisponibilité des métaux peut être évaluée en utilisant différents extractants chimiques. Tout d'abord des agents chélatants, tels que le DTPA ou bien de l'EDTA à 0,01M. On peut également utiliser des solutions salines neutres comme CaCl_2 , NH_4OAc ou NH_4NO_3 qui extraient les métaux par échanges cationiques (**Brun et al., 1998 ; McLaughlin et al., 2000**), mais également des solutions acides diluées telles que HNO_3 , HCl ou HOAc (**Li et al., 2007**).

Selon **Jin et al., (2005)**, la phytodisponibilité du plomb doit être évaluée grâce à des solutions non tamponnées, comme le CaCl_2 0,01M en raison de sa bonne corrélation avec les concentrations en Pb dans les plantes. De plus, cet extractant n'affecte pas les propriétés du sol, en particulier le Ph lors de l'extraction. Cependant, selon **Li et al., (2007)**, l'efficacité du CaCl_2 serait trop faible. Ces auteurs ont démontré dans une étude sur des sols de rizières que l'utilisation du NH_4OAc 1M était un meilleur moyen d'estimer la biodisponibilité du plomb dans les plantes. Il est également possible de réaliser des extractions séquentielles, en utilisant

des extractants de force ionique croissante, pour solubiliser successivement les fractions de plus en plus liées au sol.

II.2.4.4 Répartition et devenir des métaux lourds dans l'environnement

Le sol est un support de nombreuses activités humaines (industrialisation, urbanisation, agriculture), son rôle clef en matière d'environnement a été reconnu récemment : il intervient comme réacteur, récepteur, accumulateur et filtre des pollutions (**Robert et Juste, 1999**)

Les conditions physico-chimiques de la majorité des sols cultivés (milieu oxydant, Ph élevé, richesse en argile) sont propices à la fixation des métaux lourds dans les Parties supérieures du sol liés à la fraction fine. Il y a donc un risque important d'entraînement, par ruissellement, particulièrement en cas d'orage sur un sol nu et pentu. En général, les sols argilo-limoneux fixent les métaux par adsorption ce qui n'est pas le cas pour les sols sablonneux (**Kabata-Pendias et Pendias, 1992**).

Deux principaux types de pollutions anthropiques sont responsables de l'augmentation des flux de métaux : la pollution atmosphérique (rejets urbains et industriels) et la pollution liée aux activités agricoles (**Hammadache et al, 2015**). Les précipitations et l'irrigation sont les principales sources d'eau des sols. Une partie est évacuée par évaporation ou ruissellement de surface et l'autre 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 (**Figure 8**). Au cours de ces transports, l'eau se charge en éléments en traces dissous (**Marcos, 2001**).

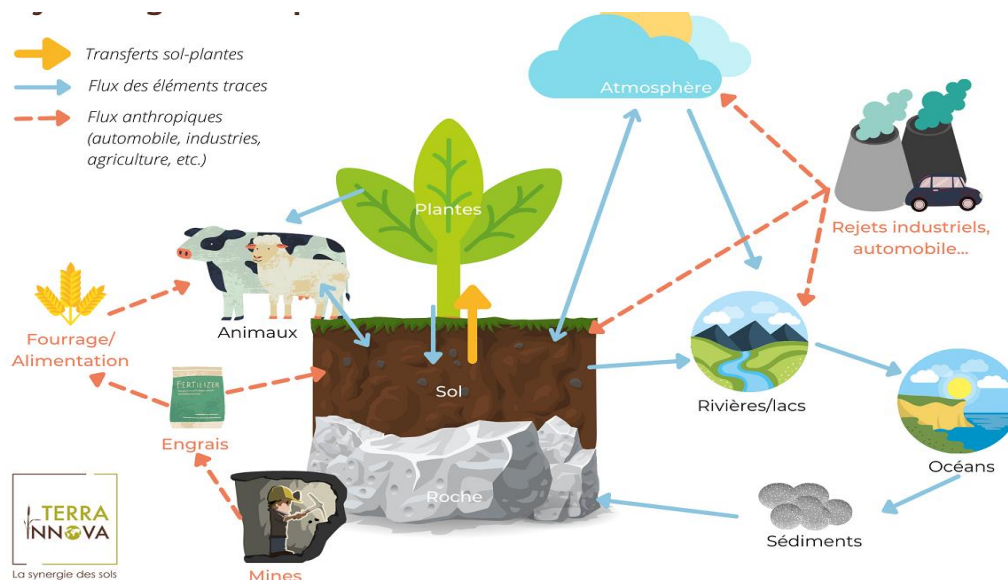


Figure 8: cycle et devenir des métaux lourds dans l'environnement (**Marcos, 2001**)

II.2.4.5 Répartition des métaux lourds dans les sols

Selon Citeau, (2004) 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 susceptible 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) (Arris, 2008).

II.2.4.6 Facteurs modifiant la mobilité des éléments métalliques

La mobilité d'un élément trace métallique constitue l'aptitude d'un élément à passer dans des compartiments du sol ou il est de moins en moins énergétiquement retenu, avec comme compartiment ultime la phase liquide ou, dans certains cas, l'atmosphère du sol (Juste, 1988).

Il existe de multiples paramètres influençant la mobilité des métaux dans les sols dont les plus importants sont (Colinet, 2003) :

a) Le 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, ainsi que de l'oxydation des sulfures. A l'inverse, ils sont consommés par l'hydrolyse des minéraux altérables.

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 souvent 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 organo-métalliques plus soluble (**Chaignon, 2001**).

Les variations de pH ont donc des conséquences complexes et parfois contraires sur la mobilité des métaux lourds, en particulier en présence de ligands organiques et inorganiques (**Hammadache et al., 2015**).

b) L'apport de matière organique :

La matière organique dissoute joue un rôle important dans la détermination de la spéciation et de la biodisponibilité des métaux. Les métaux peuvent être complexés par les substances composant la MO et plus particulièrement par les sites carboxyliques (groupements contribuant à la majorité des sites de complexation), azotés et sulfurés qui s'y trouvent (**Le Goff et Bonnomet, 2004**).

c) L'activité biologique

La compréhension globale des phénomènes biologiques jouant sur la solubilité des métaux lourds dans les sols est rendue difficile par la multiplicité des actions et interactions à tous les niveaux. Les principaux phénomènes d'action sur la mobilité des polluants métalliques sont la solubilisation, l'insolubilisations et la volatilisation (**Esteban, 2006**).

d) La température :

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 l'Eh (**Remon, 2006**).

e) Les carbonates (CaCO_3) :

La forme prédominante des carbonates ($\text{R}^{2+} + \text{CO}_3^{2-}$; R= Ca, Mg, Fe mais aussi beaucoup de métaux divalents présents dans les sols pollués tels que Pb, Zn, Cu, etc.) dans la plupart des sols est la calcite (CaCO_3). Assez soluble, cette espèce a une influence majeure sur le pH des sols et par conséquent sur les phénomènes d'absorption des métaux. En outre, les réactions de dissolution / précipitation des carbonates favorisent le piégeage des ions métalliques au sein des cristaux formés (**Blanchard, 2000**).

II.2.4.7 La toxicité des EMTs

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

La toxicité des métaux lourds est due essentiellement à :

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

II.2.4.7.1 Effets d'ETM sur la santé

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 (**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, 1986**).

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, 1984**).

II.2.4.7.2 Effet d'ETM sur les végétaux

Il est largement démontré que les ETM affectent de nombreux processus morphologiques, physiologiques et biochimiques chez les plantes. La réduction de croissance est une des

réponses les plus fréquentes et la première observable lorsque des plantes sont soumises à un stress (**Adriano, 2001**). Ce sont les organes qui sont directement en contact avec les substances toxiques, par conséquent, les racines des plantes se développant sur des sols contaminés, qui présentent rapidement des modifications détectables de leurs paramètres de croissance (**Baker et Walker, 1989**).

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 (**Figure 9**) (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**).

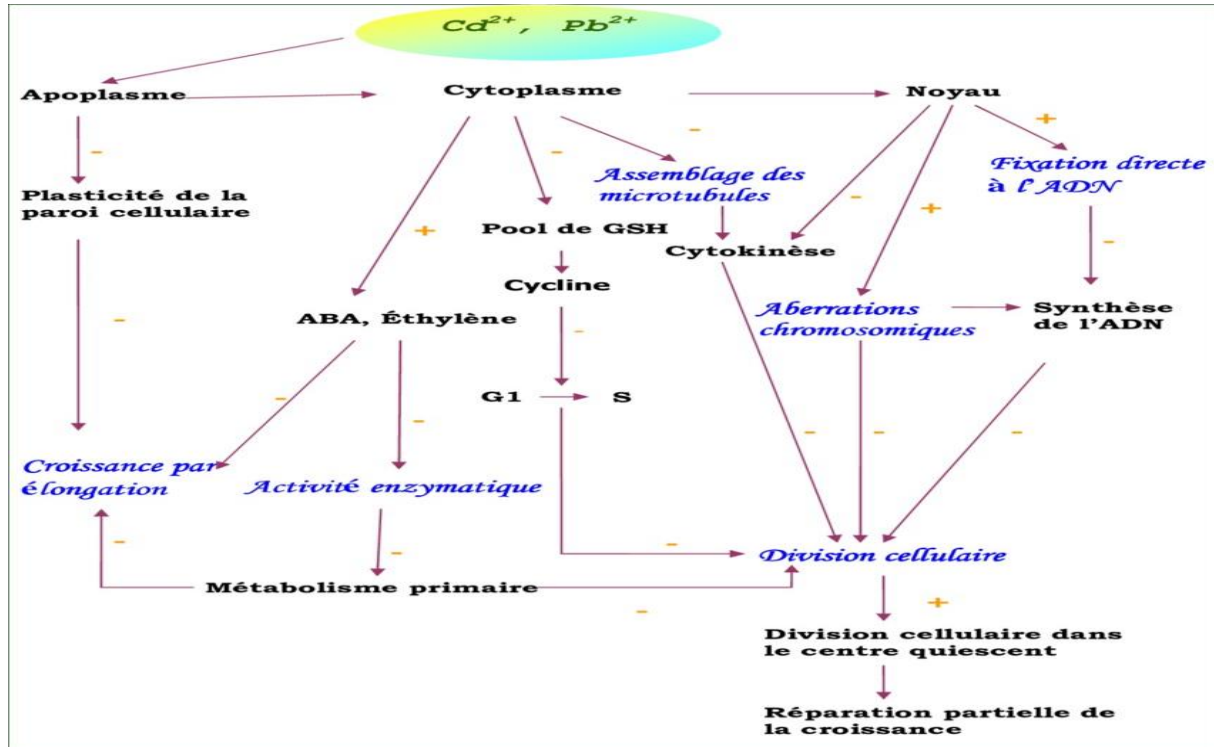


Figure 9 : Différents mécanismes altérant la division cellulaire et la croissance suite à un stress métallique par le Cd et le Pb (**Seregin et Ivanov, 2001**).

II.2.4.8 Le transport et l'accumulation des ions métalliques dans la plante

Le transport des ions métalliques par les racines des végétaux s'effectue dans la solution du sol rhizosphérique en contact avec les cellules de l'épiderme par deux voies distinctes: la voie apoplasmique et la voie symplasmique (**Figure 10**).

- L'apoplasme est constitué par l'ensemble des espaces intercellulaires présents dans les tissus en avant de la bande de caspary. Il constitue "l'espace de Donnan" car il existe de nombreuses charges négatives à la surface de la paroi des cellules (en particulier les groupements carboxyles des acides uroniques) qui créent un équilibre de Donnan favorisant l'absorption des cations. La fixation des éléments chimiques dans l'apoplasme s'effectue suivant leur affinité pour les pectines des parois ($Pb > Cu > Cd > Zn$) (**Hart et al., 1998**).
- La voie d'entrée symplasmique correspond à un transport de cellule à cellule à travers les membranes plasmiques. Pour la plupart des métaux ou des métalloïdes, on suppose que le transport du milieu extérieur vers le milieu intérieur des cellules met en contribution des transporteurs de nature protéique dont l'existence a été mise en évidence, chez certaines espèces végétales (**Mullins et Sommers, 1986**). Des transporteurs pour le fer (IRT, Nramp), pour le zinc (ZIP), pour le cuivre (COPT) ont ainsi déjà été identifiés. Des métaux comme le cadmium et le manganèse semblent utiliser les transporteurs du fer. D'ailleurs, une carence en fer induite par une surexpression de ferritine conduit à augmenter le prélèvement de Cd, Mn et Zn (**Vansuyt et al., 2000**). En outre les CGNC végétaux sont des canaux à cations peu sélectifs impliqués dans le transport du calcium et du potassium (**Köhler et al., 1999; Sunkar et al., 2000**). Un ADNc complet (NtCBP4) a été isolé chez *Nicotiana tabacum* et sa surexpression dans des plantes transgéniques de tabac a induit une augmentation de la quantité de plomb absorbée par les plantes, corrélée à une activation du transport transmembranaire du Pb (**Arazi et al., 1999; Sunkar et al., 2000**).

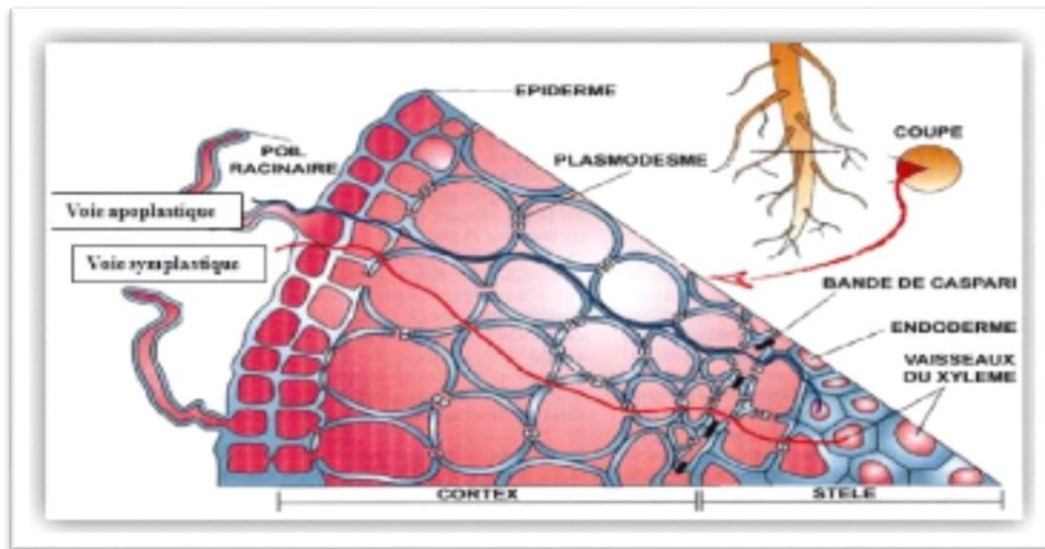


Figure 10: Coupe transversale de racine, avec le passage des ions selon les voies symplastiques et apoplastiques (Gobat *et al.*, 1998).

II.2.4.9 Accumulation dans les différents organes des plantes

Généralement, les racines ont tendance à accumuler les ETM, les parties reproductrices (fleurs, fruits, graines) à les exclure et les parties végétatives (tiges et feuilles) sont considérées comme étant intermédiaires ; les teneurs en ETM dans les plantes sont réparties selon le gradient d'accumulation : racines > tiges > feuilles > graines et fruits.

Lors de leur prélèvement par la plante, les métaux se fixent largement sur les parois cellulaires, ce qui explique pourquoi une grande partie des métaux prélevés peuvent se retrouver dans les racines comme cela a été décrit pour le plomb, le cadmium ou le zinc (Morel, 1997 ; Lasat *et al.*, 2000).

II.2.4.10 Les réactions de défense des plantes contre les EMTs

La survie d'organismes en présence de métaux toxiques dépend principalement de leurs propriétés biochimiques et structurales intrinsèques, ainsi que de leur adaptation physiologique et/ou génétique (Gadd, 1993). Cette survie n'est possible, en effet, que par la mise en jeu de mécanismes de tolérance aux métaux lourds, que nous devons connaître pour sélectionner les végétaux appropriés en vue de l'assainissement de sites pollués (Pierre Vollenweider, 2018) dont les principaux, connus chez les plantes sont trois soient largement prépondérants : **la modification de la perméabilité membranaire**, qui permet de réduire l'entrée des métaux dans la cellule, **le système anti-oxydant**, qui limite les dégâts des espèces réactives de l'oxygène et **la chélation intracellulaire**, qui empêche l'activité de l'ion métallique.

a) la modification de la perméabilité membranaire :

La membrane plasmique peut limiter l'accumulation des ions toxiques, soit en modifiant l'ensemble du flux ionique, soit en employant des systèmes ultra spécifiques autorisant un flux ionique qui ne transporterait pas les ions toxiques (**Meharg, 1993**). Cependant, si la membrane plasmique apparaît comme étant la première barrière face à l'entrée des éléments métalliques dans le cytosol, elle constitue également une cible importante pour la toxicité métallique. En effet, il a été montré que le cuivre pouvait endommager la membrane par oxydation des protéines membranaires, peroxydation lipidique (**Dietz et al., 1999**) ou inhibition des ATPases (**Meharg, 1993**). Par conséquent, l'imperméabilité n'est plus assurée et l'entrée des métaux toxiques par diffusion est facilitée (**Kabata-Pendias et Pendias, 2001**). Dès lors, la tolérance pourrait être due en partie à un renforcement de la protection de l'intégrité membranaire.

Néanmoins, la fonction des protéines associées au plasmalemm joue un rôle essentiel dans le transport des métaux à travers la membrane plasmique. Récemment, le gène codant un transporteur du fer, Il est représenté par un peptide de 339 acides aminés avec 8 domaines transmembranaires. Chez *A. thaliana*, IRT1 est exprimé dans les racines en réponse à une carence en fer. Les caractéristiques de ce transporteur et les données physiologiques indiquent que ce système n'est pas spécifique ; il pourrait également transporter d'autres ions divalents comme le zinc et le cadmium (**Briart et Lebrun, 1999**). Cette compétition entre différents ions entraînerait une déficience en fer responsable des signes visibles de chlorose. D'autres systèmes comparables ont été mis en évidence par expression fonctionnelle chez *A. thaliana*. Ainsi, COPT1 est un transporteur connu du cuivre, retrouvé dans les fleurs, les tiges et les feuilles, mais pas dans les racines. Ceci suggère que son implication dans l'absorption racinaire est peu probable. Par opposition, ZIP1 et ZIP3, exprimés lors d'une carence en zinc, sont exclusivement racinaires, et seraient par conséquent impliqués dans l'absorption racinaire. Enfin, ZIP4, localisé à la fois dans les parties racinaires et aériennes, jouerait un rôle dans la translocation du zinc. La modulation de l'expression de ces gènes pourrait donc contribuer largement à la tolérance observée chez certaines espèces. Ainsi, le site principal de la toxicité au cuivre chez *Silene vulgaris* est la membrane plasmique racinaire qui est altérée par peroxydation lipidique. Dans une étude menée sur un couple écotype de contrôle-écotype tolérant, la perméabilité membranaire vis-à-vis du cuivre est mise en évidence par un efflux de potassium plus important chez le contrôle que chez l'écotype tolérant. Pourtant les deux écotypes répondent de la même façon à un stress oxydant donné (**figure 11**). Par conséquent, la tolérance serait due à un

mécanisme limitant l'entrée de cuivre au niveau de la membrane plasmique des cellules (DeVos *et al.*, 1992).

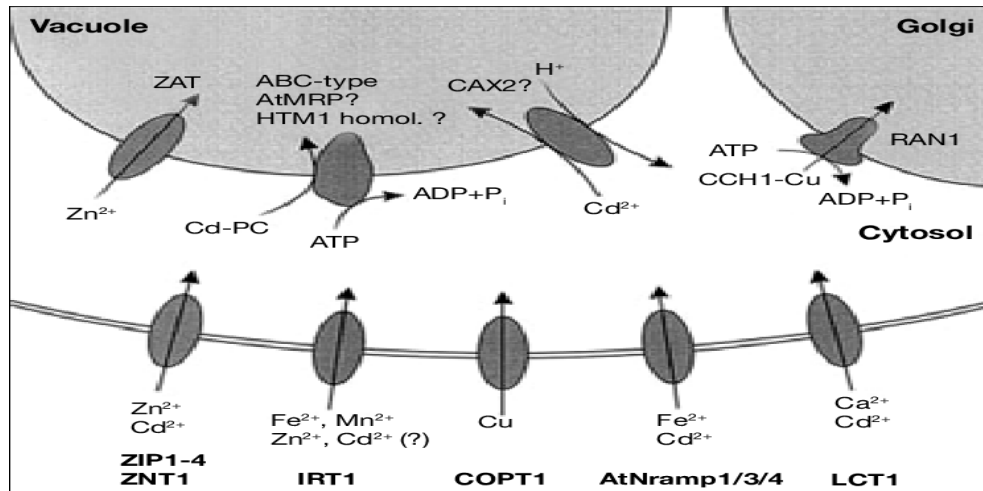


Figure 11: Transporteurs impliqués dans la compartimentation des ETM (Clemens, 2001).

b) le système anti-oxydant :

Dans une grande majorité d'organismes vivants l'élimination des espèces réactives de l'oxygène (ROS) générées par des stress environnementaux est indispensable. Les métaux lourds sont connus par leurs grandes capacités à produire ces ROS extrêmement toxiques qui dégradent des composants cellulaires très importants induisant à leurs tours un stress oxydatif (Panda et Choudhury, 2005).

Dans l'intention du contrôle de niveau des ROS et de la protection des cellules contre les dommages oxydatifs, les plantes ont développé un système de défense antioxydant complexe. Ces systèmes antioxydants comprennent divers mécanismes enzymatiques et non enzymatiques, jouant un rôle très important dans la signalisation des espèces réactives de l'oxygène chez les végétaux (Vranová *et al.*, 2002). La réponse antioxydante des plantes au stress oxydatif dû à la présence du métal peut être variable et dépendante du type de plante et du métal en question. Les enzymes antioxydantes (CAT, GPX, APX, GR et SOD) ont été étudiées chez de nombreux végétaux supérieurs et inférieurs comme le riz, le blé, les petits pois, les tomates et les mousses (Panda et Choudhury, 2005 ; Sbartaï *et al.*, 2008 ; Yahyaoui *et al.*, 2018). Les travaux de Romero-Puertas *et al.*, (2007) sur le haricot cultivé (*Phaseolus vulgaris*) et le pois cultivé (*Pisum sativum*), montre que la présence de Cd augmente sensiblement l'activité de l'ascorbate peroxydase capable de neutraliser les dérivés actifs de l'oxygène, cité par De Jean-Pierre et Yan-Chim (2018).

Le rôle direct des ETM dans la formation des ROS peut être relié à leur capacité à exister sous différents états d'oxydation. En effet, certains cations (comme le fer, le cuivre, le manganèse ou le plomb) sont capables de céder un ou plusieurs électrons susceptibles de réduire l'oxygène et ses dérivés. Cependant, les métaux qui n'existent que sous un seul état d'oxydation, comme le cadmium et le zinc peuvent induire une accumulation de ROS en perturbant certaines voies métaboliques ou en inactivant des enzymes du système anti-oxydant, contribuant ainsi à l'épuisement de la réserve cellulaire de molécules anti-oxydantes (**Sanita di Toppi et Gabbrielli, 1999**).

c) la chélation intracellulaire :

La présence intracellulaire de ligands organiques, qui assurent une complexation et donc la détoxification de nombreux ions métalliques constitue à l'heure actuelle un aspect fondamental de la résistance aux métaux lourds. Chez les végétaux, quatre groupes principaux de ligands intracellulaires ont été caractérisés :

• Les phytochélatines :

Les phytochélatines (PCs) sont des peptides de faible poids moléculaire qui présentent une forte affinité pour les métaux bivalents, essentiellement le Cd^{2+} (Clemens, 2006). Leur structure générale est $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$ ($n = 2 - 11$).

Les PCs sont synthétisées à partir du glutathion par la phytochélatine synthase et leur synthèse est stimulée par la présence d'ETM (**Vatamaniuk et al., 2000 ; Verbruggen et al., 2009**). La formation de complexes PCs-métaux permet de réduire la phytotoxicité des ions métalliques en diminuant leur concentration libre cytoplasmique (**Vögeli-Lange et Wagner, 1990**). Le principal argument en faveur de l'implication des PCs dans la tolérance aux ETM vient de leur induction et accumulation chez une large variété de plantes en réponse au cadmium et à d'autres métaux (**Rauser, 1995 ; Clemens, 2006**). Les travaux de **Gupta et Goldsbrough (1991)**, par exemple, ont montré que chez des cellules de tomate sélectionnées $\gamma 32$ pour leur tolérance au cadmium, les quantités de PCs accumulées sont considérablement supérieures à celles détectées chez des cellules sensibles.

• Les métallothionéines (MT) : sont des protéines largement distribuées dans le monde vivant. On les rencontre chez de nombreux procaryotes et chez la plupart des eucaryotes. Ces protéines sont caractérisées par leur richesse en cations métalliques (essentiellement Cu et/ou Zn) et par leur forte proportion de résidus cystéines (environ 30 %).

Elles se distinguent aussi par leur faible masse moléculaire (6 à 8 kDa et 60 à 75 acides aminés) et par l'absence de résidus aromatiques. Bien que leurs séquences en acides aminés soient très variables d'un organisme à un autre, il semblerait que la structure tridimensionnelle soit bien conservée. Selon les études actuellement disponibles, la plupart des MT présentent deux domaines globulaires distincts, dépourvus de structure secondaire et reliés entre eux par une courte séquence de transition ; chaque domaine est responsable de la fixation de plusieurs cations métalliques divalents ou monovalents. Le rôle précis des MT dans la réponse aux métaux lourds est encore débattu, mais de nombreuses observations ont montré qu'elles pourraient être impliquées dans certains mécanismes de tolérance, notamment vis-à-vis du cadmium et du cuivre. Chez *Arabidopsis thaliana* par exemple, il a été démontré que la présence de cuivre stimule la biosynthèse de MT et que la variation écotypique de la tolérance à ce métal est corrélée au taux de transcription des gènes MT (**Murphy et Taiz, 1995**). En fait, il est aujourd'hui bien établi que la surexpression de gènes MT, dans des organismes aussi variés que des cyanobactéries, des levures, des cellules de mammifères ou des plantes (**Misra et Genamu, 1989**), peut s'accompagner d'une augmentation de la tolérance à certains métaux lourds (Cu, Zn et Cd).

Des travaux d'ingénierie moléculaire, visant à modifier les capacités de chélation (affinité et spécificité) des MT, sont actuellement en cours. Cependant, il faut souligner que la synthèse de MT ne constitue probablement pas une réponse spécifique ; en effet, ces protéines s'accumulent également en réponse à d'autres stress (chocs thermiques par ex.) ou sous l'effet de facteurs telles que des hormones et des cytokines. Ainsi, la présence universelle des métallothionéines dans le monde vivant (chez les organismes sensibles comme chez les résistants) et leur synthèse dans des situations variées, suggèrent que ces protéines seraient plutôt impliquées dans le contrôle général de l'homéostasie cellulaire et non dans les réponses spécifiques aux métaux lourds (**Esteban, 2009**).

• **Les acides organiques** : représentent un autre groupe de chélateurs naturels. Sous cette dénomination sont classées des molécules diverses tels que des acides dicarboxyliques (acides fumarique, malique, oxalique) ou des acides tricarboxyliques (comme l'acide citrique). Ces molécules sont clairement impliquées dans les phénomènes d'hyperaccumulation (**Rausser, 1999 ; Callahan et al., 2006**). On observe souvent une stimulation de leur synthèse en présence d'ETM. Certaines observations ont clairement montré que, au moins dans certains cas, des acides organiques pourraient être directement impliqués dans les mécanismes de tolérance (**Clemens, 2001**).

Enfin, les acides aminés libres, comme la proline, l'histidine et la cystéine, s'accumulent lors d'un stress métallique et pourraient être eux aussi impliqués dans la chélation de divers métaux lourds (**Briat et Lebrun, 1999 ; Hall, 2002**).

*** D'autres mécanismes agissant contre les effets néfastes des ETM peuvent être cités :**

- Certains transporteurs associés à la membrane plasmique réalisent un efflux actif des ions métalliques à l'extérieur des cellules. Ils interviennent généralement dans le contrôle global de l'homéostasie cellulaire mais certains d'entre-eux, comme les transporteurs appartenant aux familles CPx-ATPase et CDF, semblent être clairement impliqués dans les mécanismes de tolérance aux métaux (**Hall, 2002**)

- Les protéines de choc thermique (HSP), déjà réputées pour leur implication dans le stress lié à un choc thermique, seraient également responsables de la tolérance aux éléments traces toxiques (**Memon et al., 2001 ; Hall, 2002 ; Timperio et al., 2008**). En effet, des stress très variés, ayant en commun de dénaturer les protéines, sont capables d'induire cette réponse de type « choc thermique ». L'induction des HSP permet à la cellule de réparer les dommages protéiques ainsi occasionnés par redissolution des agrégats, renaturation des polypeptides ou, si cela est impossible, par l'engagement des protéines dénaturées vers les voies de dégradation.

Ainsi, les résultats obtenus sur des cellules de tomate ont établi que la présence d'H₂O₂ induit la synthèse de protéines de choc thermique (**Banzet et al., 1998**). De la même façon, dans les cellules de *Lycopersicon peruvianum* exposées à 1 mM de cadmium, des quantités significatives d'HSP70 ont été relevées au niveau du plasmalemme, de la membrane mitochondriale et du réticulum endoplasmique, sièges de multiples dégâts du stress oxydant Provoqué par les ETM (**Neumann et al., 1994**).

II.2.4.11 Le cadmium (Cd)

Très soluble dans l'eau, le cadmium est le métal lourd le plus toxique chez les plantes et les vertébrés. Même à très faible concentration, il est absorbé par les racines et interfère avec le développement normal et la croissance des végétaux en provoquant des chloroses et en accélérant la sénescence (**Dal Corso et al, 2010**). Au niveau des racines, il interfère avec l'absorption du calcium (Ca), magnésium (Mg) potassium (K) et du phosphore (P) indispensables pour le bon fonctionnement de la plante. Il inhibe l'activité d'un grand nombre d'enzymes impliquées dans le métabolisme du fer, l'assimilation chlorophyllienne et la fixation

de l'azote dans les nodules des Fabacées. Sa présence dans la plante provoque aussi l'accumulation de plusieurs formes réactives de l'oxygène qui occasionnent des nécroses foliaires. Dans les organelles comme les chloroplastes, le cadmium endommage le système de la photosynthèse et en particulier il interfère avec les enzymes impliquées dans l'assimilation du carbone (CO_2). Ce métal lourd réagit sur le bon fonctionnement de la mitose et provoque des mutations (**Dal Corso et al., 2008**). Le cadmium entre aussi en concurrence avec le calcium pour se lier à la calmoduline de façon à perturber le système de signalisation dépendant du calcium (**Dal Corso, 2012**)

Il est rare de trouver des sols uniquement pollués par du cadmium car ce métal est plus souvent présent dans des milieux contenant aussi du plomb et / ou du zinc (**Daud et al., 2008**). Les sols faiblement pollués contiennent des concentrations de cadmium comprises entre 0,04 et 0,32 mM de Cd. Les sols modérément à fortement contaminés atteignent quant à eux des concentrations supérieures à 0,32 mM et pouvant aller jusqu'à 1 mM (**Daud et al., 2008**).

Ses principales propriétés physico-chimiques sont présentées dans le Tableau 2

Tableau 2: Propriétés du cadmium (**Ditria, 2002**).

Caractère	Valeurs
Symbole chimique	Cd
Nombre atomique	48
Masse atomique	112,411
Nombre d'oxydation	+2
Conductivité thermique	96,8 $\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$
Densité	8,650 g/cm^3 (293 K)
État physique à 20°C	Solide
Point de fusion	321,07 °C
Point d'ébullition	767 °C
Température critique	2687 °C
Tension de vapeur	0,013 Pa à 18 °C
Isotope	106 Cd , 108 Cd , 110 Cd , 111 Cd , 112 Cd , 113 Cd, 114 Cd , 116

II.2.4.12 Le plomb (Pb)

Le plomb est l'un des métaux lourds les plus abondants dans l'environnement que l'on retrouve aussi dans la chaîne alimentaire. Les symptômes d'intoxication au plomb chez les plantes se manifestent par des chloroses et une inhibition de la croissance, en particulier celle des racines, ce qui diminue fortement l'absorption des nutriments présents dans le sol. Le plomb

inhibe la perméabilité des membranes cellulaires, cela perturbe l'absorption d'autres cations tels que le potassium, calcium, magnésium, manganèse, zinc et cuivre, essentiels pour le bon fonctionnement des cellules (**Patra et al., 2004**). Ainsi, en se liant aux enzymes, le plomb prend la place de ces éléments. À l'exemple d'autres métaux lourds, en raison de sa grande affinité pour les groupes sulfhydryles (-SH) et carboxyles (-COOH), il modifie ainsi la conformation et fonctions des protéines et enzymes. Le plomb change la pression osmotique et de ce fait altère la circulation de l'eau dans la plante. Un autre effet nocif de ce métal lourd est de perturber le cycle cellulaire et la mitose (**Dal Corso, 2012**).

Il appartient au groupe IV b de la classification périodique des éléments. Ses principales propriétés physico-chimiques sont présentées dans le Tableau 3. De configuration électronique [Xe] 4f14 5d10 6s2 6p2, il possède 2 électrons non appariés sur la dernière couche. Cette configuration électronique autorise les degrés d'oxydation (+2) et (+4), en plus de la forme métal (0). Le cation Pb²⁺ est un acide au sens de Lewis, c'est-à-dire qu'il est susceptible d'accepter un doublet d'électrons venant d'une base, pour former une liaison covalente. Mais c'est également une espèce chargée susceptible d'interactions électrostatiques avec des ions de signes contraires, pour former une liaison ionique (**Sposito, 1989**).

Tableau 3: Principales propriétés physico-chimiques du plomb (**Sposito, 1989**).

Caractère	Valeurs
Symbole	Pb
Numéro Atomique	82
Masse atomique	207,2 g.mol ⁻¹
Point de fusion	327 °C
Point d'ébullition	1740 °C
Densité	11,35
Configuration électronique [Xe]	4f14 5d10 6s2 6p2
Valence	0, +2, +4
Pb²⁺	0,94 à 1,49 Å
Pb⁴⁺	0,78 à 0,94 Å

Le plomb fait partie des éléments qui ont été le plus largement utilisés par l'homme au fil du temps. De ce fait, il existe plusieurs sources de contamination par le Pb dans les sols agricoles. Celles-ci incluent le matériau parental ainsi que les activités anthropiques y compris les émissions du trafic automobile qui est la principale source, la fabrication des batteries électriques, l'utilisation des peintures, l'incinération des déchets et l'exploitation des mines. En plus de l'industrie, le plomb a des applications dans les engrais et les pesticides utilisés à des

fins agricoles (**Jan et al., 2015 ; Simon, 2016 ; Abosedo, 2017 ; Guan et al., 2017**). Cela a conduit à une pollution importante des sols et des eaux de surface par cet élément et par conséquent, son absorption par les plantes et son accumulation ultérieure le long de la chaîne alimentaire constituent une menace potentielle pour la santé humaine (**Jan et al., 2015 ; Abdurrahman et al., 2017 ; Guan et al., 2017 ; Liu et al., 2017 ; Prabhu and Prabhu, 2018 ; Zeng et al., 2018**).

La toxicité du Pb est reconnue depuis longtemps, depuis l'Empire Romain, la maladie liée à une intoxication au Pb suite à une exposition intense ou prolongée est connue sous le nom de saturnisme. Les enfants y sont les premiers exposés. Historiquement, on attribue souvent cette maladie à la cause du déclin de l'Empire Latin (**Godin, 1983; Sammut et al., 2010 ; Alloway, 2010**). L'exposition aiguë au plomb peut provoquer une perte d'appétit, maux de tête, hypertension, douleurs abdominales, dysfonctionnement rénal, fatigue, insomnie, arthrite, hallucinations et vertiges (**Castelli et al., 2005 ; Jan et al., 2015 ; Fan et Wang, 2017**). Tandis qu'une exposition chronique peut engendrer des dommages de nombreux organes et systèmes du corps, tels que les reins (lésions rénales), le foie, le système reproducteur (stérilité, anomalies congénitales), le système nerveux (déficience intellectuelle, psychose, autisme, lésions cérébrales, perte de mémoire), le système urinaire, le système immunitaire et même la mort (**Sammut et al., 2010 ; Alloway, 2010 ; Azizi et Azizi, 2010 ; Chen, 2011 ; Su et al., 2014 ; Adama et Esena, 2016 ; Fan et Wang, 2017 ; Santoro et al., 2017**).

II.2.5 Cytogénétique et génotoxicité

II.2.5.1 Définition

La molécule d'ADN, support physique de l'hérédité, assure le fonctionnement cellulaire de tout organisme et permet à la cellule de réagir aux messages de son environnement. Parmi les contaminants potentiels, ceux pouvant interagir directement ou indirectement avec le matériel génétique présentent un intérêt d'étude particulier car ils peuvent interférer avec l'ensemble du métabolisme cellulaire et conduire à la transmission d'informations erronées. La définition de la génotoxicité établie par le Centre International de Recherche sur le Cancer (**CIRC, 1992**) inclut à la fois des effets directs et indirects sur l'ADN tels qu'une induction de modifications géniques, chromosomiques, génomiques, d'événements indirectement associés à la mutagenèse (synthèse non programmée de l'ADN ou échange de chromatides sœurs), des modifications de la structure primaire de l'ADN (cassures, adduits) pouvant conduire à des mutations.

Ces modifications peuvent en théorie affecter plusieurs niveaux d'organisation biologique, de la molécule à la population en modifiant des fonctions telles que le développement, la reproduction et la survie des individus et ainsi compromettre la dynamique de croissance des populations (**Vasseur et Cossu-Leguille, 2003**).

Par définition, les produits génotoxiques sont donc des agents physiques ou chimiques capable d'induire des modifications génétiques dans les cellules vivantes. Divers agents chimiques (organiques et inorganiques) et physiques (radiations ionisantes, rayonnements UV) ont la capacité d'interagir avec la molécule d'ADN et d'en modifier l'intégrité. La taille de la cible affectée varie selon le mode d'action des agents génotoxiques (**Goujon, 2015**).

Plusieurs auteurs ont montré que les métaux lourds (Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+}) causent des aberrations chromosomiques en induisant des micronoyaux, des ponts et des fragments de chromosomes (**Agarwal et al., 1987 ; Fiskejo, 1988 ; Elftheriou et Karataglis, 1989 ; Punz et Sieghardt, 1993 ; Wierzicka, 1994 ; Liu et al., 1995 ; Liu et al., 2003 ; Gichner et al., 2004 ; Ünyayar et al., 2006 ; Souguir et al., 2008**). Ils altèrent le fonctionnement du fuseau mitotique et leur interférence avec la division cellulaire peut induire une inhibition de l'élongation racinaire (**Jiang et al., 2000 ; Seregin et Ivanov, 2001**).

Les dommages à l'ADN sont généralement partagés en deux catégories : les lésions géniques (lésions fonctionnelles) et les lésions chromosomiques (lésions structurales).

II.2.5.2 Les lésions géniques

Elles résultent d'une modification de la séquence nucléotidique des régions codantes (mutations fonctionnelles) et/ou non codantes (mutations silencieuses) d'un gène. Ces mutations ponctuelles peuvent être provoquées par des agents mutagènes et consistent essentiellement en des substitutions, additions ou délétions de paires de bases. Selon leur positionnement sur la séquence nucléotidique (au niveau des codons stop par exemple) elles peuvent affecter l'expression du gène et conduire à des nouveaux produits de synthèse plus ou moins défectueux. Les mutations produisant un décalage du cadre de lecture du code génétique «frameshift mutations» modifient quant à elles la séquence du gène, altèrent sa transcription et mènent fréquemment à des produits de gènes non fonctionnels (**Goujon, 2015**).

II.2.5.3 Les lésions chromosomiques

Elles peuvent être caractérisées soit par l'altération du nombre de chromosomes qui conduit à des aneuploïdies ou des polyploïdies, généralement induites par une exposition à des

substances interférant avec l'appareil mitotique durant la division cellulaire, soit par l'altération de la structure des chromosomes avec des cassures, des délétions, des inversions²² ou des translocations. On parle alors non plus d'agents mutagènes mais plutôt d'agents clastogènes pour les produits responsables de ces lésions chromosomiques. Certaines de ces modifications structurales comme les adduits à l'ADN ou la dimérisation de bases pyrimidiques sont spécifiques de l'agent génotoxique responsable (**Shugart, 2000**).

Les mécanismes menant à ces différentes lésions structurales varient selon les agents génotoxiques. Certaines de ces lésions proviennent d'interactions directes du xénobiotique avec la molécule d'ADN, aussi bien sous sa forme d'origine ou après sa biotransformation en métabolites réactifs. D'autres sont indirectes, comme les dommages oxydants, et proviennent également d'effets secondaires de certains agents génotoxiques capables de générer des éléments oxygénés actifs. L'altération la plus connue est l'oxydation de la guanine en 8-hydroxyguanine (8-oxo-dG) par les deux formes réactives les plus génotoxiques : le radical hydroxyle et l'oxygène singulet.

Lorsque les dommages persistent sans provoquer la mort cellulaire, ils peuvent altérer la fidélité de la réplication et produire des mutations irréversibles capables de se propager dans les cellules filles. Les échanges de chromatides sœurs, les aberrations chromosomiques structurales (délétions, duplications, recombinaisons, translocations) et numériques (aneuploïdie, polyploïdie), la formation de micronoyaux sont les principaux dommages cytogénétiques formés au cours ou suite à la division cellulaire après une exposition à des génotoxiques (**Hebert et Luiker, 1996**).

II.2.5.4 Le test d'aberrations chromosomiques

Le test d'aberrations chromosomiques *in vitro* peut être pratiqué chez les plantes sur les cellules somatiques au niveau de la zone méristématique des extrémités racinaires (**Ji et al., 1999; Marcano et al., 2002**) ou sur les cellules germinales sur jeunes bourgeons floraux (**Ma et al., 1996**). Ce test est destiné à détecter les agents polluants qui provoquent des anomalies touchant la structure des chromosomes.

Ces aberrations sont détectables par un examen au microscope optique ou par fluorescence. Cet examen peut être réalisé sur les cellules aux stades anaphase et télophase (**Rank et Nielsen, 1997**) et se présentent sous la forme de délétions, de cassures ou de modifications chromosomiques observables.

Ces modifications structurales des chromosomes sont soit induites directement par l'agent polluant en créant des dommages au niveau de l'ADN, soit indirectement suite à la production d'espèces réactives de l'oxygène par exemple qui vont former des adduits de l'ADN (**Kovalchuk et al., 2001**). Selon la littérature les aberrations structurales sont sous forme de chromosomes « vagabonds », d'adhérences de chromosomes ou « stickiness », de ponts chromosomiques, de chromosomes fragmentés et de formes atypiques de migration telle que les chromosomes en étoile

II.2.5.4.1 Les délétions terminales ou les pertes de télomères

ont comme conséquence la formation de ponts et de chromosomes fragmentés en anaphase (**Nicoloff et Gecheff, 1976; Rank et Nielsen, 1993**). En effet, quand un chromosome se coupe en un point unique, les fragments distaux, c'est à dire les fragments qui sont détachés du centromère, ou acentriques et donc ne possédant pas de centromère, sont perdus. Bien que le grand fragment restant contienne le centromère, l'absence de télomère fonctionnel à l'une des extrémités conduit fréquemment à l'instabilité du chromosome. Il se forme alors un pont chromosomique et, s'il est assez long, un fragment peut être visible (**Rank, 2003**) (**figure12**).

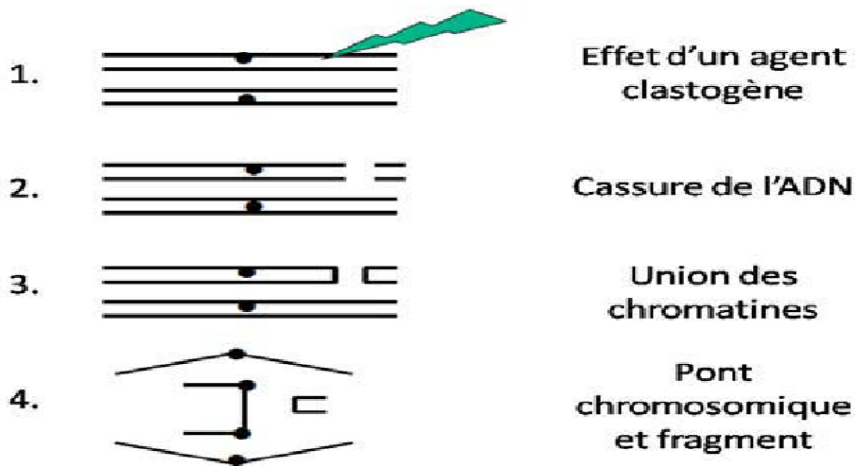


Figure 12: Formation d'un pont chromosomique et d'un fragment durant l'anaphase ou la télophase après cassure double brin de la chromatine et de sa « mauvaise » réparation (**Rank, 2003**).

II.2.5.4.2 Les adhérences de chromosomes ou "stickiness"

Sont définies comme étant des agglutinations de chromosomes de nature inconnue qui ont comme conséquence un aspect collant (**Jiang et al., 2000**). Ces adhérences sont supposées apparaître lors de la perte d'activité de certaines protéines telles que l'ADN-topoisomérase-II, ce qui peut également être à l'origine des cassures chromosomiques (**Gaulden, 1987**). En effet,

la topoisomérase-II joue un rôle dans la condensation des chromosomes pendant la prophase ainsi que la séparation des deux chromatides sœurs pendant l'anaphase.

II.2.5.4.3 Les chromosomes vagabonds isolés ou les anaphases de type « étoile »

Peuvent être issus d'une désorganisation du réseau des microtubules. En début d'anaphase, les chromatides sœurs se séparent de façon synchrone et les deux lots sont "tirés" par les microtubules kinetochoriens vers les pôles. Si les microtubules ne sont plus fonctionnels et ne permettent plus la bonne migration des chromosomes, il en résulte des anaphases et télophases aberrantes (Eleftheriou et *al.*, 2012).

II.2.5.5 Importance des essais de génotoxicité sur les plantes

La plupart des tests de toxicité sont effectués sur des petits mammifères tels que les rats ou les souris ce qui est relativement long, coûteux et critiquable d'un point de vue éthique (Tsuda et *al.*, 2001). L'utilisation des plantes comme modèle expérimental pour évaluer la toxicité est relativement attrayante puisque ces tests sont relativement simples à réaliser, peu coûteux, sensibles, et rapides.

Certains auteurs soulignent l'importance de l'utilisation des plantes comme modèles biologiques pour l'évaluation et la détection de produits à risque dans l'environnement (Gopalan, 1999; Ma, 1999). Les plantes seraient plus sensibles que les autres organismes pour détecter des éléments clastogènes et permettent des études sur la pollution au niveau des sols, au niveau aquatique ou atmosphérique. Le test de germination ou de croissance racinaire est largement utilisé pour déterminer la toxicité des herbicides, des métaux lourds, des stress salins ainsi que des produits chimiques toxiques (Dane et Dalgic, 2005; Hidalgo et *al.*, 1989; Jiang et *al.*, 2000; Liman et *al.*, 2011).

II.3 Phytoremédiation

II.3.1 Généralités sur la phytoremédiation

Les sols sont l'objet d'une gamme de menaces, telles que l'érosion, la perte de matière organique, la compaction, l'acidification, la salinisation, l'artificialisation... et la contamination. L'enjeu est donc non seulement la préservation des sols pour la production agricole destinée à une population qui s'accroît, mais aussi la récupération des sols dégradés et contaminés. Il faut ainsi disposer d'outils et de méthodes de remédiation des sols malades de la pollution.

L'idée d'utiliser des plantes pour extraire les métaux lourds et leurs composantes fut introduite en 1983, mais le principe est connu depuis 300 ans (**Henry, 2000**). C'est dans les années 90 que le concept de la remédiation (bio et phytoremédiation) émerge comme une nouvelle technologie qui utilise les plantes vertes et des microorganismes associés (bactéries, champignons) pour le nettoyage d'un environnement pollué par les métaux, les métalloïdes, les radionucléides et les xénobiotiques organiques (**Smits et Freeman, 2006**).

La phytoremédiation est une technique biologique qui permet de lutter contre les risques liés aux polluants. Elle est basée sur l'utilisation des mécanismes de tolérance induits chez les végétaux. elle regroupe différentes techniques : la phytoextraction, la phytostabilisation, la phytovolatilisation, la rhizofiltration et la phytodégradation (**Chaney et al., 1997 ; Pulford et al., 2003**).

Nous nous focaliserons sur les deux premières techniques qui concernent essentiellement les ETM (**Figure 13**).

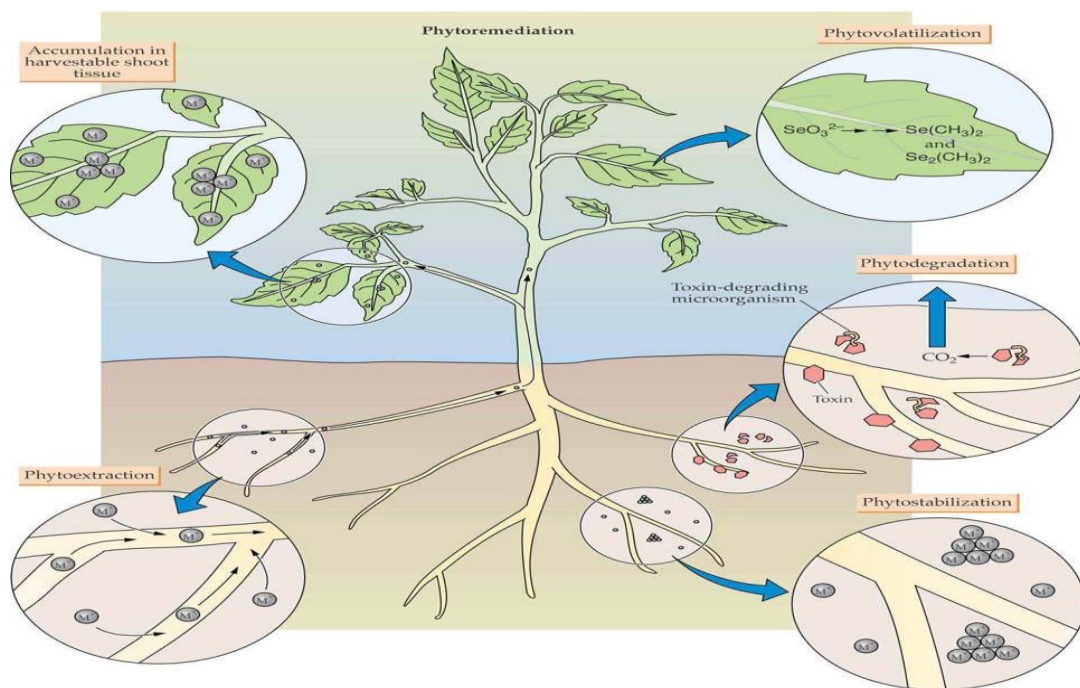


Figure 13: Les différents types de phytoremédiation (**Buchanan et al., 2002**).

II.3.1.1 La phytoextraction

Repose sur l'extraction des polluants présents dans le sol à l'aide d'espèces végétales, avec ou sans ajout d'amendements. Cette technique consiste à utiliser les capacités qu'ont certaines plantes accumulatrices ou hyperaccumulatrices à transférer via des transporteurs les

métaux lourds des racines jusqu'à leurs tissus foliaires dans le but d'extraire les polluants d'un sol contaminé. Les contaminants sont stockés dans la biomasse de la plante via la lignification et dans les vacuoles de cellules des feuilles. Après l'accumulation des contaminants par les plantes, celles-ci peuvent être récoltées et traitées. Le procédé est répété jusqu'à ce que l'abaissement du niveau de pollution du sol soit significatif (**Bert et Deram, 1999 ; Dechamp et Meerts, 2003 ; ADEME, 2010**).

- **Que faire avec la biomasse récoltée ?**

Les voies de valorisation de cette biomasse enrichie en polluants sont à l'étude. Des essais sont conduits au travers de divers projets français et européens dans lesquels sont testés, entre autres procédés, la combustion, la pyrolyse, la gazéification, la solvolyse et la méthanisation. Pour les biomasses contenant des métaux ayant une forte valeur sur les marchés ou en voie de raréfaction (ex. : nickel, zinc), des procédés visant à la récupération de ces métaux dans la biomasse ont fait l'objet de brevets tandis que d'autres sont à l'étude (hydrométallurgie, catalyse écologique et chimie verte). (**Barbaroux et al ; 2009**)

II.3.1.2 La phytostabilisation

Cette technique a pour but de retenir les contaminants et de parer à leur potentielle propagation. Les contaminants sont retenus par les racines des plantes, Pour éviter que les contaminants ne soient éventuellement relargués dans l'environnement, la phytostabilisation exige un suivi à long terme. Durant la phytostabilisation, il peut y avoir conversion des polluants sous des formes moins biodisponibles, par exemple, lorsque ceux-ci précipitent dans la rhizosphère (**Pilon-Smits, 2005**).

PARTIE III. MATERIEL ET METHODES

III.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est l'Orge (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*) Raihane variété National a été obtenu auprès du l'ITGC, de la famille des Fabacées, la plante a été choisie en raison de son utilisation au laboratoire comme plante modèle pour les études d'éco-toxicologie de différents polluants, ainsi pour son meilleur taux de germination, sa croissance rapide et sa biomasse importante.

- **Conduite de l'essai et traitements :**

Les essais ont été menés au niveau du laboratoire de biologie végétale de l'université de Saida. Les graines ont été sélectionnées (**figure 14**) et désinfectées à l'hypochlorite de sodium à 1% pendant 5 minutes, pour éliminer toute contamination fongique. Puis rincées rigoureusement et abondamment à l'eau distillée 3 à 4 fois pendant 5 min. elles sont ensuite, mises à germer dans des boîtes de pétri sur papier filtre. Quatre jour après, les plantules ont été transplantées dans des pots en plastique remplis de tourbe. les graines et les plantules sont traitées par les métaux de plomb (Pb) et Cadmium (Cd) sans ou accompagner de NaCl à raison de deux concentrations différentes (2mM/et1mM/l) respectivement contre un lot témoin.



Figure 14: sélection des gaines d'orge pour la mise en culture dans des boîtes pétri

Le stress métallique et salin est appliqué dès le premier jour de la culture d'orge, durant 15 jours). Le plan expérimental (**tableau 4**) représente les différentes doses de sel (NaCl), de métaux lourds (Pb et Cd) et la combinaison entre eux

Tableau 4: Conception expérimentale

Traitement	Concentration en Pb mM/l	Concentration en Cd mM/l	Concentration en NaCl mM/l
T0	0	0	0
T1	0	0	102,9
T2	0	0	137,2
T3	0	1	0
T4	2	0	0
T5	0	1	102,9
T6	0	1	137,2
T7	2	0	102,9
T8	2	0	137,2

III.2 Paramètres mesurés

Les mesures effectuées sur les paramètres morphologiques des plantes (hauteurs de parties aériennes et racinaires) ont été réalisées chaque jour pendant l'exposition au plomb, Cd et salinité. Par ailleurs l'étude des paramètres physiologiques, biochimiques chimiques et cytogénétiques ont été réalisée à la fin de l'expérimentation.

Des observations visuelles (décoloration, jaunissement, dépigmentations, flétrissement...) ont été signalée.

III.2.1 Paramètres morphologiques

III.2.1.1 Taux de germination

C'est le pourcentage maximal de grains germés sur le nombre total de grains mis à germer, elle s'exprime en pourcentage (%) selon la formule suivante :

$$\text{Taux de germination \%} = (NG/NTG) \times 100$$

NG : Nombre de graines germées / **NTG** : Nombre total des graines

Rappelons que la germination des grains est considérée positive quand les radicules atteignent 5mm de longueur (**Kaur et Duffus,1989**).

III.2.1.2 Longueur moyenne des racines et feuilles

Les plantules sont délicatement retirées des pots, L'élongation des parties aériennes et racinaires a été mesurée après la récolte (15j de germination) , à l'aide d'un ruban gradué en centimètre (cm).

III.2.2 Paramètres biochimiques

III.2.2.1 Détermination des concentrations des pigments photosynthétique

Pour analyser la teneur en chlorophylle des plantes, un échantillonnage a été réalisé sur les feuilles selon la méthode donnée par **Arnon (1949)**. Des feuilles de même âge (15j) des plantes ont été lavées et essuyées. Puis coupées à l'aide d'un couteau pour ensuite être pesées, à l'aide d'une balance de précision pour obtenir 0,5 g de matière fraîche. Ce matériel végétal a été broyé dans un mortier en porcelaine avec du sable lavé, séché et stérilisé. Quatre millilitres d'acétone à 95% sont ajoutés dans le mélange et l'extrait est ensuite centrifugé pendant 5mn/2500t. 1ml de surnageant est alors récupéré et repris dans 4 ml d'acétone à 95% puis centrifugé à nouveau afin d'extraire toute la chlorophylle.

Les concentrations en mg /l de solutés des chlorophylles sont données par les formules suivantes (**Taffouo et al., 2008**)

$$\text{Ch a} = 12,7 - 2,69 x \quad \text{Où :}$$

$$\text{Ch b} = 22,99 x - 4,68 y \quad x : \text{est l'absorbance de chlorophylle à 645 nm .}$$

$$\text{Ch (a+b)} = 20,21 x + 8,02 y \quad y : \text{est l'absorbance de chlorophylle à 663 nm .}$$

III.2.2.2 Détermination des concentrations des sucres solubles totaux

Les sucres solubles sont dosés selon Dubois et *al*, 1956. Les mesures d'absorbance sont effectuées à une longueur d'onde de 492 nm ou 480 nm. La courbe d'étalonnage est réalisée selon l'équation suivant : **$Y=39,94 X$**

III.2.2.3 Détermination des concentrations des protéines totaux

Les protéines sont dosées selon la méthode de **Bradford (1976)**, qui utilise le bleu brillant de Coomassie G250 (BSA) comme réactif et le sérum d'albumine bovine (BSA) comme standard. Le dosage s'effectue en 3 étapes :

1.Préparation de l'échantillon: (0.1g) de l'échantillon de chaque concentration est broyé dans un mortier avec 5ml d'eau distillée, puis filtré et versé dans des tubes avec 5 autres contenant de l'eau distillée.

2. Préparation de réactif de Bradford: Pour préparer ce réactif, il faut prendre 0.1g de BBC (Bleu brillant de Coomassie), ajouter 50ml d'éthanol à 95% puis le placer sur un agitateur pendant 2 heures. Rajouter ensuite 100ml d'acide ortho phosphorique à 85% et compléter à l'eau distillée jusqu'à 01 litre.

3. Préparation de la solution mère :

Solution mère de BSA (Albumine Sérum de Bœuf) à 1mg / ml dans de l'eau distillée.

III.2.3 Paramètres chimiques

Dosage des éléments traces métalliques présents dans les plantules d'orge

A la fin de la culture, les plantules ont été prélevées afin de déterminer la teneur en métaux (plomb et Cd). Elles ont été préalablement séchées à l'étuve à 40°C jusqu'à l'évaporation de l'eau. Ces plantules ont été ensuite broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre dont la granulométrie est très fine ($< 2\mu\text{m}$). Ce broyage a été suivi d'un tamisage ($2\mu\text{m}$). Les échantillons obtenus ont été mis dans des capsules en polyéthylène auxquels on a ajouté 2 ml de l'acide nitrique et 6 ml de l'acide chlorhydrique pour la minéralisation qui avait lieu dans l'étuve à 80°C pendant une heure (**Ayed slama et al., 2018**). Le dosage des métaux a été réalisé par spectrophotomètre d'émission atomique. Le facteur de bioaccumulation (BCF) des ETM, qui exprime la capacité des plantes à extraire les métaux traces à partir de son support de culture, a été calculé selon la formule : $\text{BCF} = \text{C}_{\text{plt}} / \text{C}_{\text{sol}}$

Avec C_{plt} (mg kg^{-1}) est la concentration du métal chez les plantules d'orge et C_{s} (mg kg^{-1}) est la concentration du métal dans la solution nutritive. Selon **Baker (1981)**, si le $\text{BCF} < 1$ l'espèce étudiée est exclusive d'ETM, si le $\text{BCF} = 1$ l'espèce est indicatrice, alors que si le $\text{BCF} > 1$ l'espèce est un accumulatrice.

III.2.4 Paramètres Cytogénétiques

Le protocole expérimental est celui de **Jahierr et al., (1992)**. Ce protocole, comporte les étapes suivantes :

▪ **Préfixation :**

Après la germination les racines de 0.5 à 1 cm sont prétraitées par Immersion dans une solution de cholchicine (0.05%) (agent mitoclasique qui empêche la formation du faisceau

achromatique) pendant 5 heures à température ambiante.

- **Rinçage :**

Avec de l'eau distillée pour éliminer l'excès de Colchicine

- **Fixation :**

Est réalisée dans un mélange alcool-acide acétique (3 :1 v/v) pendant 24 Heurs à 4 C° ou bien à température ambiante. Cette étape à pour but de bloquer toute évolution des divisions cellulaires et de conserver l'intégrité structurale des chromosomes.

- **Stockage :**

Les caryopses germés ont été stockés dans l'alcool 70° à froid.ils peuvent être conservé pendant une longue période.

- **Hydrolyse :**

Elle a été réalisée après rinçage dans de l'eau distillée, dans une solution d'HCL 1 N au bain marie à 60 C°, pendant 10 minutes afin d'obtenir un bon étalement des cellules et des chromosomes entre lames et lamelle.

- **Rinçage :**

Avec de l'eau distillée pour éliminer l'excès de l'HCL.

- **Coloration :**

Cette technique est appelée « Feulgen » elle a été mise au point par Feulgen et Rossen Beck en 1914. Se fait dans le réactif de Schiff pendant 30 à 60 minutes, à température ambiante et à l'obscurité. Ce dernier se fixe sur les groupements aldéhyde libéré par l'HCL, et colore les chromosomes en rose.

- **Montage et observation :**

Après rinçage à l'eau, pour éliminer l'excès du colorant, les extrémités racinaires colorées en rouge vif sont coupées et montées entre lames et lamelles, dans une goutte de carmin acétique ou bien dans l'acide acétique à 45% pour augmenter le contraste entre les chromosomes et le cytoplasme. Ensuite on fait des squashes qui consiste à écrasé les préparations à l'aide d'une allumette.

L'observation des lames et la prise des photos sont réalisées à l'aide d'un microscope – vidéo de Type ZEISS en utilisant l'huile d'immersion au grossissement X 100.

Le comptage des cellules normales ou aberrantes est réalisé sur 1000 cellules par concentration en extrait à raison de 100 cellules par apex racinaire, en prenant en compte toutes les phases de la division cellulaire : prophase (P), métaphase (M), anaphase (A) et télophase (T).

III.3 Analyse statistique

La comparaison des plusieurs moyennes est effectuées par une analyse de variance (ANOVA) En utilisant le logiciel Sigma Stat avec le facteur intoxication et/ou le facteur traitement suivie éventuellement du test Post-Hoc Student-Newman-Keuls :

* $p \leq 0.05$ indique une différence significative. ** $p < 0.01$; indique une différence très significative ; *** $p < 0.001$ indique une différence hautement significative comparés aux témoins.

PARTIE IV. RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1 Effet du Cd, Pb et NaCl sur les paramètres morphologiques

IV.1.1 Taux de germination

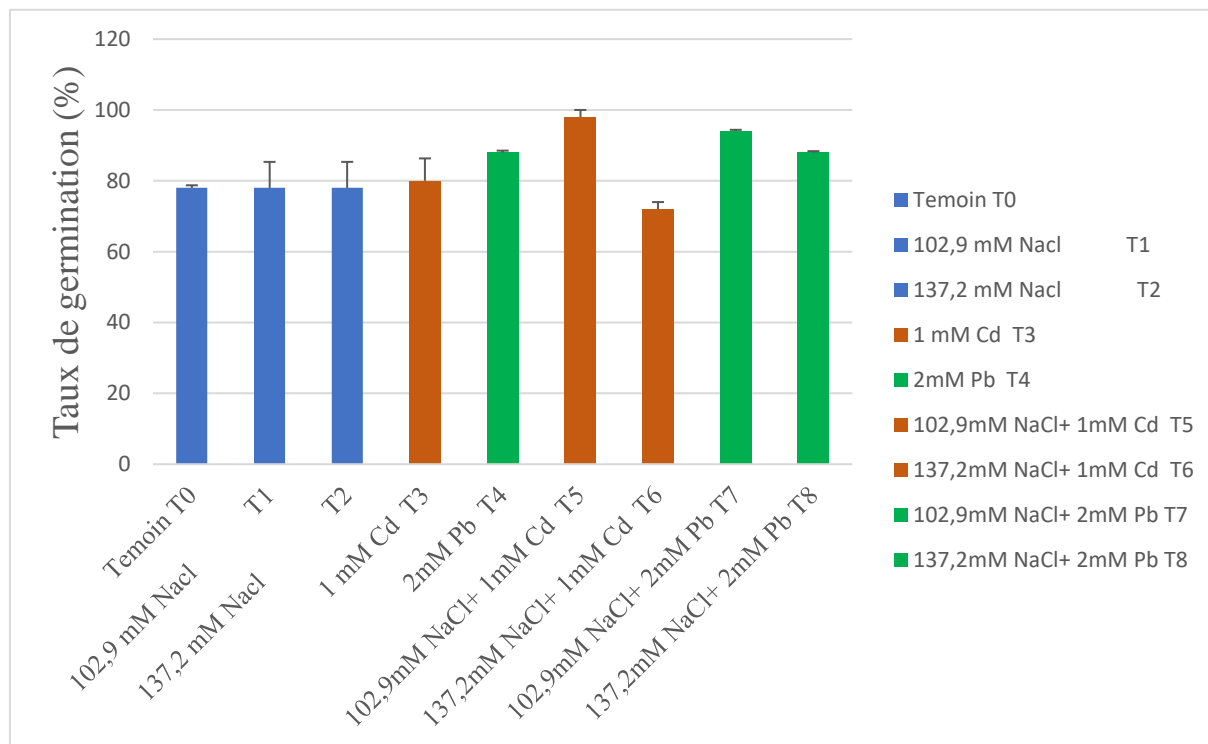


Figure 15: Variation des taux de germination finale en fonction des traitements après 15 jours de germination

Le taux de germination indique combien de graines d'une espèce végétale, d'une variété ou d'un lot de graines particulières sont susceptibles de germer sur une période donnée, aussi il dépend directement de la nature des traitements qu'ils subissent. La germination est une étape absolument cruciale du cycle de vie des plantes puisqu'elle détermine la vie de chaque individu et leur rendement plus tard.

En effet, la Figure 15 montre que le taux de germination n'a pas été affecté par le stress salin ou métallique (Aucune différence significative) au contraire se taux semble supérieur (79,80 et 88%) que le témoins (79%). En outre ce taux de germination a augmenté de manière significative chez les graines traitées par la combinaison Sel-Cadmium (1mMCd+102,9mM/l NaCl)(99%), Sel-Pb (2mM Pb+102,9Mm/l NaCl)(96%). De même, les travaux de **Sghaier et al., (2016)** ; **Bankaji et al., (2015)** et **(2016)** ont montré que l'ajout de sel a atténué l'effet toxique de l'As, du Pb et du Cd. La diminution de taux de germination s'avère non significative au niveau des graines traitées par la combinaison Sel-Cd (1mMCd+137,2mM/l NaCl) (70%).

La salinité et le stress en général affecte la germination à différents niveaux. En premier lieu, elle entrave la phase d'imbibition en eau des graines en raison du potentiel osmotique bas

du substrat. Lié à la composante osmotique, un déséquilibre en minéraux est aussi induit en raison de l'effet compétitif entre les ions de sels et les ions nutritifs (potassium, phosphore, etc.). De plus, les ions de sels solubles ont un effet toxique perturbant le métabolisme des protéines et des acides nucléiques. Tout cela affecte négativement cette étape cruciale et diminue considérablement le pourcentage de germination des plantes (**Parihar et al., 2015 ; Othman et al., 2006**).

Plusieurs études ont indiqué que la diminution de la croissance des plantes et du rendement des cultures dans des conditions de stress a été associée à une diminution de l'absorption des nutriments et de l'eau, à un métabolisme anormal et à une inhibition de la synthèse des protéines végétales (**Pessarakli, 2001**). En outre **Askri et al., (2007)** ont montré que l'augmentation de la concentration des sels retarde la germination, et réduit le pourcentage final de germination (**Othman et al., 2006 ; Askri et al., 2007 ; Bouda et Haddioui, 2011 ; Yousofinia et al., 2012**). Cette diminution est due selon **Othman et al., (2006)**, à la réduction de l'utilisation des réserves des grains. Cependant, **Khan et Rizvi, (1994)** signalent que la germination est un facteur déterminant pour la réussite de la croissance des plantes en milieu.

Nos observations morphologiques sont en accord avec les travaux de **Rechachi et al., (2020) et Djerah, (2015)** qui confirment la tolérance de l'orge aux contraintes salines notamment la variété Rihane. De même Ces résultats sont similaires aux travaux de **Azizi, (2017)** sur *Triticum durum* Desf traitée par les EMTs ou ils ont confirmé que le pourcentage moyen de germination (PMG) augmente pour toutes les concentrations et en fonction des différents traitements alors que le cadmium (Cd) seul diminue le taux de germination de 50% à 48h pour atteindre un taux proche de celui des témoins à la fin du traitement (après 96 H)ce qui est en total en accord avec les travaux de **Vernay et al., (2009)**.

IV.1.2 Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl, Cd et Plomb) sur l'élongation de la partie racinaire

Les résultats ont révélé que les caractéristiques de croissance évaluées de l'orge examinées durant 15j de germination étaient liées aux types de stress et aux concentrations appliquées.

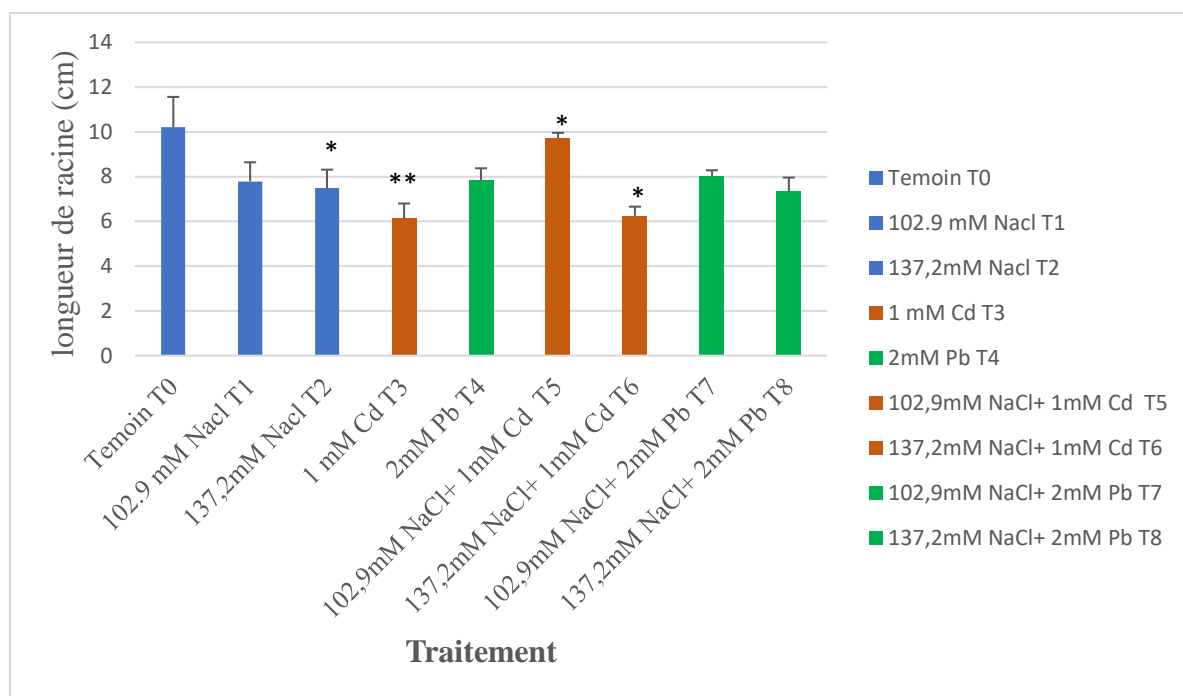


Figure 16: Variation de la croissance racinaire en fonction des traitements après 15jour de germination.

La réduction de croissance est généralement observée lorsque des plantes sont soumise à un stress . Cette réduction peut être due à une diminution de l'absorption et la distribution d'éléments essentiels chez les plantes (**Hediji et al.,2015**), et /ou à l'inhibition de la division et de l'élongation cellulaire.

La figure 16 présente, la variation de la croissance racinaire des plantules Cultivées sur un sol contaminé ou non par du Cd et Pb en présence de doses combiné de NaCl (0Mm/l, 102,9 mM/l et 137,2 mM/l), les résultats enregistrent une diminution de l'élongation inversement proportionnelles avec l'augmentation des doses, comparativement aux plantes témoins (**figure 18**).

On remarque que plus la concentration de NaCl augmente, plus la longueur des racines diminue avec trois groupes différents (témoin T0 "10,71cm", T1 "7,90cm", T2 "7,70cm"). Ces résultats coïncident avec ceux obtenus par **Ben Naceur et al., (2001)** et **Benderradji et al., (2011)** sur des variétés de blé (*Triticum aestivum*) .

Le Pb provoque une nette diminution de l'élongation de la partie racinaire chez la dose de 2mM(7,90cm) comparativement au témoin (10,71 cm) (une diminution non significative chez T4 par rapport aux T0 $p > 0,05$), Ce résultat témoigne d'une action systémique du Pb. Cette diminution est inversement proportionnelle aux doses de Pb combinées avec 102.9 mM de NaCl (8,00 cm).

L'élongation la plus faible de la partie racinaire est enregistrée à la dose de 2mM de Pb combinée avec 137.2 mM de NaCl (7.50 cm). L'analyse statistique de l'interaction Pb-NaCl montre aucune différence significative sur l'élongation de la partie racinaire de la plante. il a été démontré que le plomb provoque une inhibition de la division cellulaire racinaire chez *Lemna minor* (**Samardakiewicz et Wozny, 2005**). Chez plusieurs espèces de plantes, y compris *Triticum aestivum* (**Dey et al., 2007; Kaur et al., 2013 ; Zea mays Kozhevnikova et al., 2009**), *Pisum sativum* (**Malecka et al., 2009**), et *Sedum alfredii* (**Gupta et al., 2010**), une diminution de la longueur et de la masse sèche des racines sous la toxicité du Pb ont été rapportés **Munzuroglu et Geckil., (2002) ; Verma et Dubey (2003)**.

La concentrations de Cd a affecté la croissance racinaire (6cm) par rapport au témoin (10.5cm), Ces résultats sont en concordance avec des études menées sur l'impact négatif des métaux lourds sur la croissance des racines chez *Raphanus sativus* (**Akhtar Javed et al., 2018**) et *Oryza sativa* (**Aziz et al., 2015**). En effet, le cadmium devient toxique et affecte négativement la croissance de la plupart des végétaux. Plusieurs études ont montré que la présence du cadmium dans le milieu de culture peut se traduire, au-delà d'une certaine limite, par l'apparition de symptômes d'intoxication, accompagnées d'une inhibition de la croissance pondérale des plantes (**Ouariti et al., 1997 ; Djebali et al., 2002; Ghnaya et al., 2005; Zorrig et al., 2010**). Cette inhibition affecte beaucoup plus les organes aériens que racinaires (**Djebali et al., 2005**). Ces effets toxiques sont dus à la vulnérabilité de plusieurs processus physiologiques et biochimiques du cadmium et peuvent être liés, entre autres, à la perturbation de l'équilibre de certaines hormones de croissance, notamment l'auxine (**Hasenstein et al., 1988**). L'interaction Cd-NaCl révéla une augmentation significative chez T5 par rapport T3 ($p < 0,05$), La réduction de croissance est généralement observée lorsque des plantes sont soumises au stress des éléments traces métalliques (**Nada et al., 2007 ; Ran et al., 2014**).

En générale les racines émergentes sont le premier organe qui entre en contact direct avec les différents composants de la rhizosphère. Lorsqu'une racine absorbe l'eau ou les nutriments du sol, les ions et les molécules se déplacent vers cet organe à la fois par flux massique (avec l'eau du sol) et par processus de diffusion. La croissance des racines est plus sensible à la contamination par les EMTs (**Lal, 2010**). Un effet immédiat de la concentration élevée de métal entraîne l'inhibition de la croissance des racines, qui peut être plus courte, très ramifiée et sans structure solide (**Al-Othman et al., 2016**).

IV.1.3 Effet combiné de stress salin et métallique (NaCl, Cd et Plomb) sur l'élongation de la partie aériennes

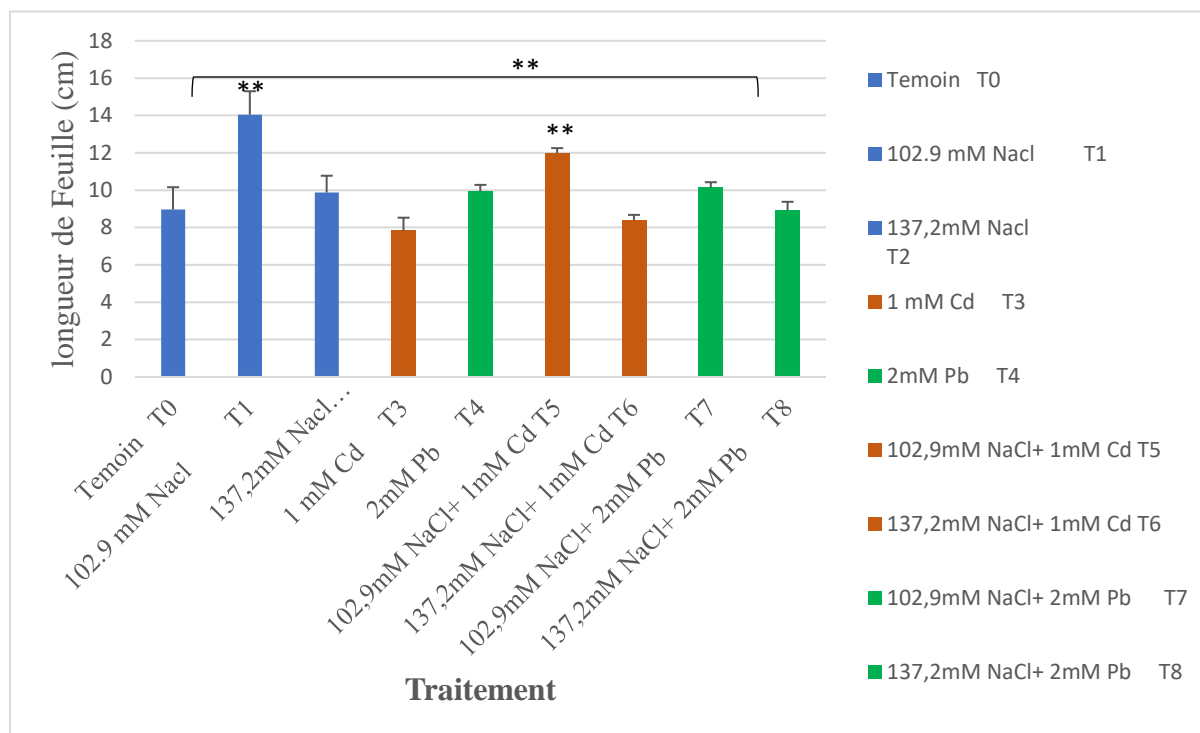


Figure 17: Variation de la croissance aérienne en fonction des traitements après 15jour de germination.

D'après les résultats de la figure 17, on remarque que le stress n'a pas affecté l'élongation des feuilles ou en remarque une augmentation de taille (T1,T2 et T4) (14cm,9.99cm et 10 cm) respectivement par rapport au Témoin T0 (8.90cm) (figure 18), par contre le Cd (T3) a diminué cette longueur. les feuilles des plantes stressée au Cd et Pb additionnée avec 137.9 Mm/l de NaCl est plus affectée par rapport aux plantes stressées au Cd et Pb additionné avec 102.9 de NaCl. La combinaison NaCl/Cd et NaCl/Pb a augmenté la croissance de la partie aérienne une différence très significative notamment avec le Cd, ceci prouve encore que la salinité a un effet améliorante au niveau de déroulement de la croissance des plantule de l'orge. c'est résultats sont en accord avec les travaux de **Neggaz, (2019)** qui montre que l'élongation de la partie aérienne de radis augmente en fonction de l'augmentation des doses métalliques appliquées, hormis une diminution non significative due par l'application de Pb. Par contre, l'élongation racinaire semble d'être affectée par le stress métallique.

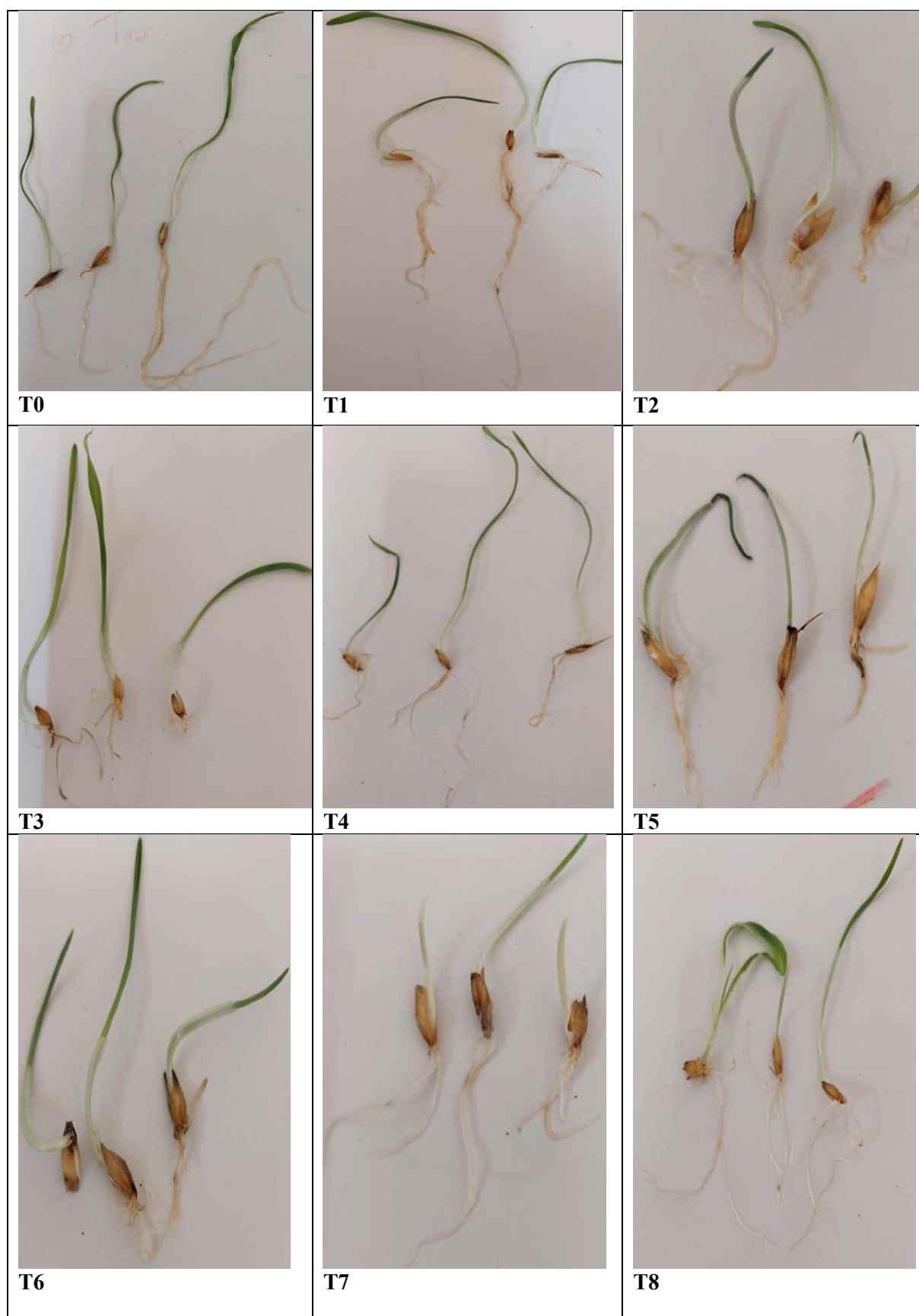


Figure 18: Aspects morphologiques de plantules d'orge après 15jour de traitement par différentes concentrations de Cd, Pb et NaCl.

IV.2 Effet du Cd, Pb et NaCl sur les paramètres biochimiques

IV.2.1 Impact d'un traitement au cadmium et plomb associé à un stress salin sur la synthèse chlorophyllienne chez l'orge

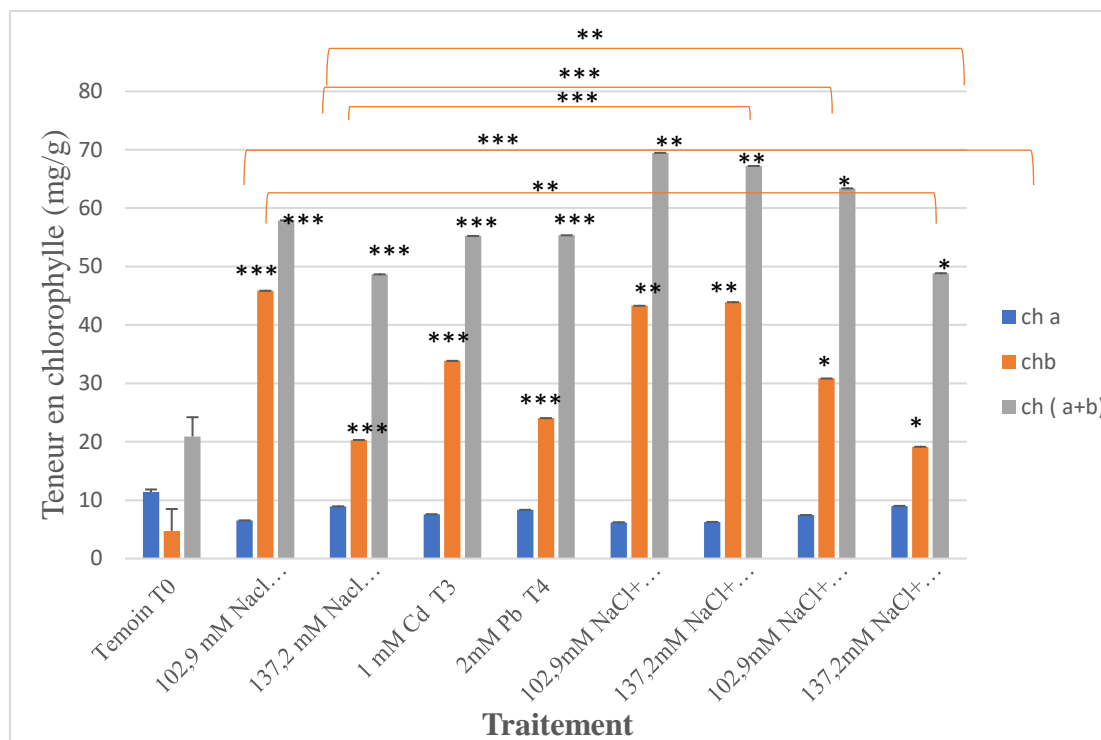


Figure 19: Variations des teneurs en chlorophylles a, b et totales (mg/g) dans les feuilles d'orge

La figure 19 montre que le traitement salin seul perturbe la teneur en chlorophylles totales qui augmente en fonction des concentrations de NaCl. Cette augmentation peut atteindre 50mg/g à la plus forte concentration (137.2mM/l) de NaCl et 59mg/g aux faible concentration (102,9mM) . Elle est essentiellement liée à une réduction de la teneur en chlorophylle a et une teneur en chlorophylle b croissante. On outre, en présence de Cd et Plomb , la plante semble être protégée. Les teneurs en chlorophylles sont moins affectées et cela est particulièrement visible en présence de la concentration de 102,9mM en NaCl combinée avec le Cd et le Pb .

La diminution de la quantité des chlorophylles est un symptôme de toxicité chez les plantes. Une telle diminution provoquée par le stress cadmique a été observée chez les plantes halophytes *Tamarix smyrnensis* (Kadukova et al., 2008) et *Mesembryanthemum muricatum* (Ghnaya et al., 2005). Durant notre expérimentation, l'augmentation du taux de chlorophylle b et total est observée au présence de NaCl, Cd et Pb, alors que la combinaison Cd/NaCl et Pb/NaCl améliorent ce même taux. Ceci confirme une fois de plus le rôle positif des faibles concentrations de NaCl sur la variété Rihane . En parallèle, l'augmentation de la teneur en

pigments chlorophylliens observée chez cette espèce n'est qu'une forme de tolérance au Pb, Cd et au double stress par le NaCl ou les plantes activent leur métabolisme pour éviter ces stress comme il a été enregistrée chez *Sesuvium portulacastrum* (**Mariem et al., 2014**).

Nos résultats est en accord avec ceux de **Benjamin et al.,(2020)** chez deux variétés de poacées ou ils ont trouvé que le Pb est négativement corrélé à la chlorophylle a, ce qui entraine la chlorose foliaire, des lésions nécrotiques, jaunissement progressif et du repliement ou du dessèchement du feuillage et bloque ainsi leur métabolisme, ce qui confirme les travaux de **Mununga et al. (2018)**. A forte concentration, il agit comme un facteur de stress et il altère le développement et la croissance normale des plantes (**Chouti et al., 2018**). Le Plomb est d'ailleurs sans effet bénéfique même à de très faibles concentrations dans un macrophyte (**Kabata-Pendias et Pendias, 2001; Garnier, 2005**).

En outre les travaux de **Messaoud et Akrouf, (2019)** montrent une diminution importante de la teneur en pigments chlorophyllien (Chl a, Chl b, Chl t et Caroténoïdes) des céréales exposées à différentes concentrations en Pb (0.15, 0.3 et 0.6 g/l) par rapport aux témoins. Cette diminution s'accroît avec l'augmentation de l'intensité du stress. De ce fait plusieurs travaux (**Souahi, 2017 ; Elarbi, 2018**) montrent que le plomb a une influence sur la réduction de la teneur en pigments chlorophylliens (chlorophylles et caroténoïdes). Ceci pourrait être attribué d'une part, au stress oxydatif qui provoque l'inhibition de l'acide amino lévulinique déshydratase (ALAD), une enzyme importante dans la biosynthèse de la chlorophylle (**Pereira et al., 2006**) et d'autre part, le plomb peut agir directement sur le transport des électrons et des enzymes du cycle de Calvin et indirectement induit une diminution de la teneur en chlorophylle (**Chatterjee et Chatterjee, 2000**).

IV.2.2 Impact d'un traitement au cadmium et plomb associé à un stress salin sur la synthèse des sucres solubles chez l'orge

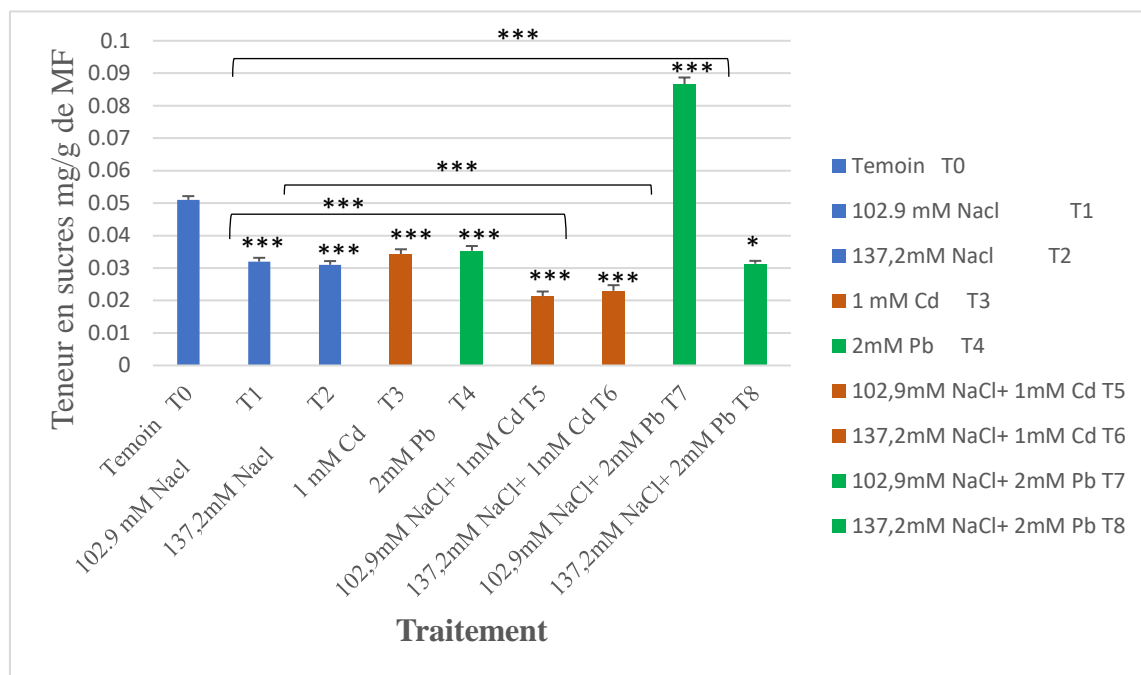


Figure 20: Evolution des teneurs en sucres solubles totaux des tissus de la partie racinaire

Les sucres sont les éléments carbonés primaires synthétisés et distribués dans toute la plante lors de la photosynthèse ; ils peuvent aussi agir en tant qu'osmorégulateurs lors d'un stress. Les changements des taux des sucres solubles dans les tissus des plantes qui évoluent dans des environnements pollués par les métaux lourds ne sont pas déterminés avec certitude (Gawęda, 2007). Certains auteurs (Huang *et al.*, 1974 ; Soheir *et al.*, 2002) ont détecté une diminution des sucres solubles, d'autres (Azouz *et al.*, 2011), ont signalé au contraire une augmentation en fonction de l'intensité du stress appliqué et le niveau de la tolérance.

Les résultats obtenus (Figure 20) montrent que le Pb, Cd et le NaCl entraînent une réduction importante des teneurs en sucres solubles comparativement au témoin. l'interaction Cd-NaCl provoquent une diminution très significative des teneurs en sucres solubles de la plante. Cette diminution atteint (0.021 mg/g et 0.025mg/g) combinées avec (102,9mM et 137,2mM de NaCl) respectivement. La teneur la plus élevée en sucres est enregistrée à la dose de 102,9mM de NaCl combinée avec 2mM de Pb. Cependant, la plus faible teneur en sucres solubles est enregistrée à la dose de 102,9mM de NaCl et 1mM de Cd respectivement, cette réduction causée par un stress Selon De Raissac (1992) est due à une perturbation de la translocation des réserves, conduit à une réduction de la synthèse des sucres et de l'amidon.

Les sucres accumulés viennent essentiellement de l'hydrolyse des réserves d'amidon ou du blocage de la glycolyse (Hare et al., 1998). Dubey et Singh, (1999) ont observé une dégradation de l'amidon accompagnée d'une augmentation des teneurs en sucres solubles qui peut être attribuée à une augmentation de l'activité de l'amidon phosphorylase, à celle du glucose phosphatase synthétase et à une diminution de l'activité de l'invertase. Pareillement, Costa et Spitz, (1997) observent également une perturbation de la teneur en glucides solubles sous l'effet du Cd qui résulterait de l'action des radicaux libres produits.

Ces résultats sont en conformité avec les travaux de Mouffak, (2009) chez *Vigna radiata*. L Wilczek qui a trouvée qu'au niveau des racines, la teneur diminue en sucre soluble allant de 80,54 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ à 75,87 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ sous la salinité à 50 meq.l⁻¹

IV.2.3 Effet du Cd, Pb et NaCl seul et combiné sur la teneur en protéine totale

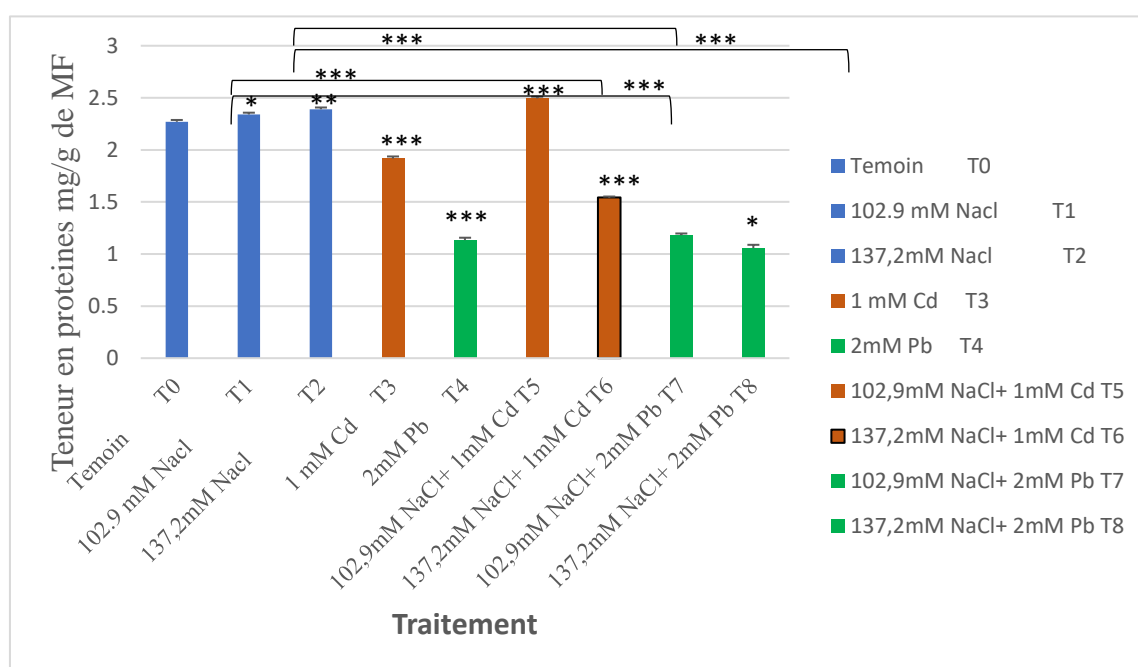


Figure 21: Evolution des teneurs en protéine totaux

Les résultats illustrés par la figure 21 montrent que le stress a un effet marqué sur la teneur en protéine qui augmente substantiellement avec les concentrations appliquées de NaCl et diminue en fonction des doses métalliques par rapport au témoin. En plus sous l'effet d'une faible dose de NaCl (102,9mM/l) la combinaison Cd-NaCl et Pb-NaCl a provoqué une augmentation significative de la teneur en protéines (2,5Mg/g et 1,4mg/g), cette teneur diminue inversement avec les doses élevées (137,2mM) de NaCl (1,6mg/g et 1,1mg/g).

La réduction des protéines à cause des métaux lourds peut être expliquée par des réactions de protéolyse et libération d'acides aminées (**Berlett et Stadtman, 1997 ; Siedlecka et Krupa, 2002 ; Hsu et Kao, 2003 ; Pena et al., 2006 ; Sharma et Dietz, 2006**). D'autres auteurs comme **Shraddha Singh et al., (2004)** ont trouvé une accumulation nette des protéines dans les racines et les feuilles de tomate, proportionnelle à la concentration du métal étudié. En revanche et d'une manière générale, **Stalt et al., (2003)** ont indiqué que l'exposition des plantes à différentes concentrations de cadmium a tendance à stimuler la synthèse des protéines particulièrement, les phytochélatines dont le rôle est la détoxification.

Nos résultats sont en accord avec les résultats de **Mouffak,(2009)** chez **Vigna radiata**, **Cusido et al.,(1986)** sur *nicotiana rustica* qui ont trouvé une accumulation des protéine sous un stress salin cette accumulation est corrélée avec la tolérance au stress chez plusieurs espèces de végétaux. On pense que ces protéines ont un rôle protecteur sous stress osmotique (**Brini et al., 2007**). Insi les travaux de **Jana et Choudhuri, (1982) ; Mohan et Hosetti, (1997) ; Saxena et al., (2003) ; Mishra et al., (2006) ; Garcia et al., (2006) ; Piotrowska et al., (2009)** ont constaté que la présence de Plomb diminue le pool protéique chez les plantes.

L'augmentation de la teneur en protéines après l'ajout de faible dose de NaCl est en accords avec les travaux de **Neggaz, (2019)** sur *Raphanus sativus* traités par le Plomb et la salinité.

Plusieurs auteurs ont montré que le stress entraine une hausse des protéines totales pour le stress salin (**Bouchoukh, 2010**), ceci concorde exactement dans notre travail, La variété étudiée a répondu aux conditions des trois stress appliqués par une hausse dans le niveau de protéines totales comparativement aux témoins, ce qui confirme que les contraintes abiotiques induisent des modifications quantitatives et qualitatives dans la synthèse des protéines. Ce résultat peut être expliqué par le fait que la plante cherche à protéger son intégrité morphophysiologique, en réponse aux dommages et aux effets défavorables du stress appliqué en élaborant des enzymes et des protéines dont le rôle est de neutraliser les molécules générées par ce stress (**Gardés-Albert et al, 2003**).

La stimulation des protéines est due à une activation d'un ensemble de gènes permettant la synthèse des protéines spécifiques associées aux stress qui assurent une protection de l'ensemble vital des protéines cellulaires pour maintenir les structures protéiques et membranaires de la cellule végétale.

IV.3 Effet du Cd, Pb et NaCl sur les paramètres chimiques

IV.3.1 Bioaccumulation du Plomb et du Cd dans les parties racinaires et aériennes

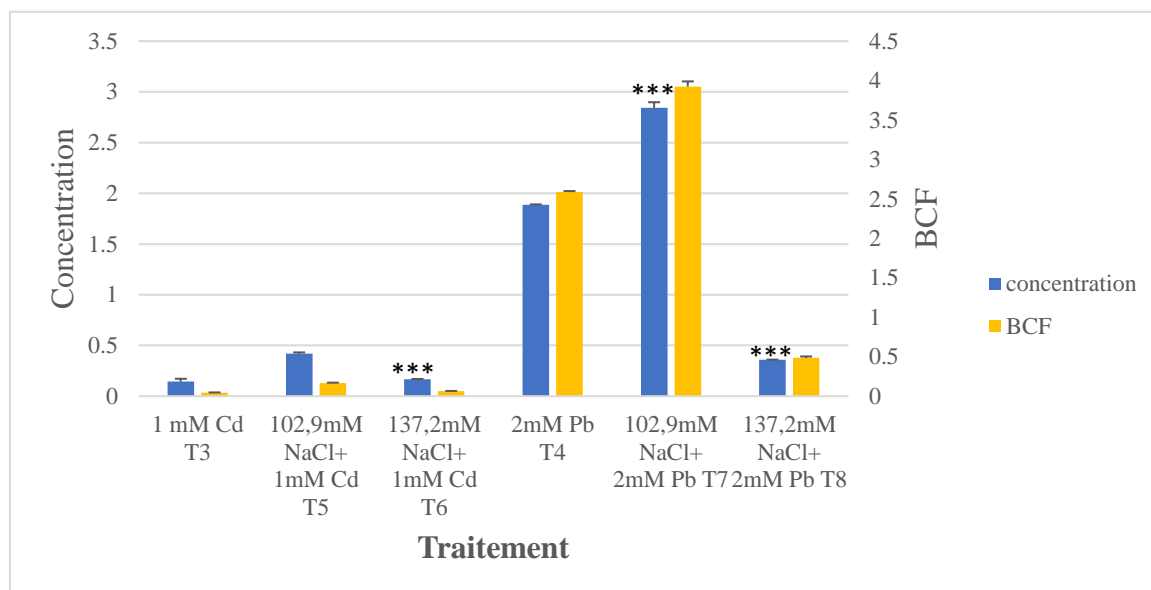


Figure 22: Teneur en Pb et Cd dans les parties racinaire de Raihane sous l'interaction Plomb-NaCl, Cd-NaCl ou Pb,Cd seul

Les résultats obtenus (**Figure 22**) montrent que l'orge accumule dans ces parties racinaires des quantités importantes de Pb par rapport au Cd, en fonction de la concentration de Pb, Cd et l'interaction Pb-NaCl, Cd-NaCl dans la solution d'arrosage. La combinaison de Pb, Cd(2mM/l, 1mM/l) respectivement avec(102,9mM /l) de NaCl enregistre des quantités de Pb et Cd supérieures à celles enregistrées sous l'effet de Pb et Cd seul (il existe une augmentation significative ($p < 0,001$) chez T5 par rapport T3 et T7 par rapport T4) néanmoins, La combinaison Cd et Pb avec 137,2 mM/l de NaCl enregistre des quantités de Cd et Pb inférieures à celles enregistrées sous l'effet de Cd et Pb seul.

La comparaison des concentrations et d'accumulation en Cd et Pb des plantes traitées en absence et en présence de NaCl permet de mettre en évidence plusieurs phénomènes. Lorsque la concentration de Cd dans les racines est importante (0,11 ;0,42 et 0,16 mg/l), le facteur de bioaccumulation (BCF) de ce métal diminue (0,04 ; 0,16 et 0,06) respectivement. Par contre Lorsque la concentration de Pb dans les racines est importante (1,88 ; 2,84 et 0,35 mg/l), le facteur de bioaccumulation de ce métal augmente (2.58 ; 3.92, et 0,48) respectivement. Ce que nous laisse penser que Ces valeurs sont légèrement améliorées en présence de faibles doses de NaCl.

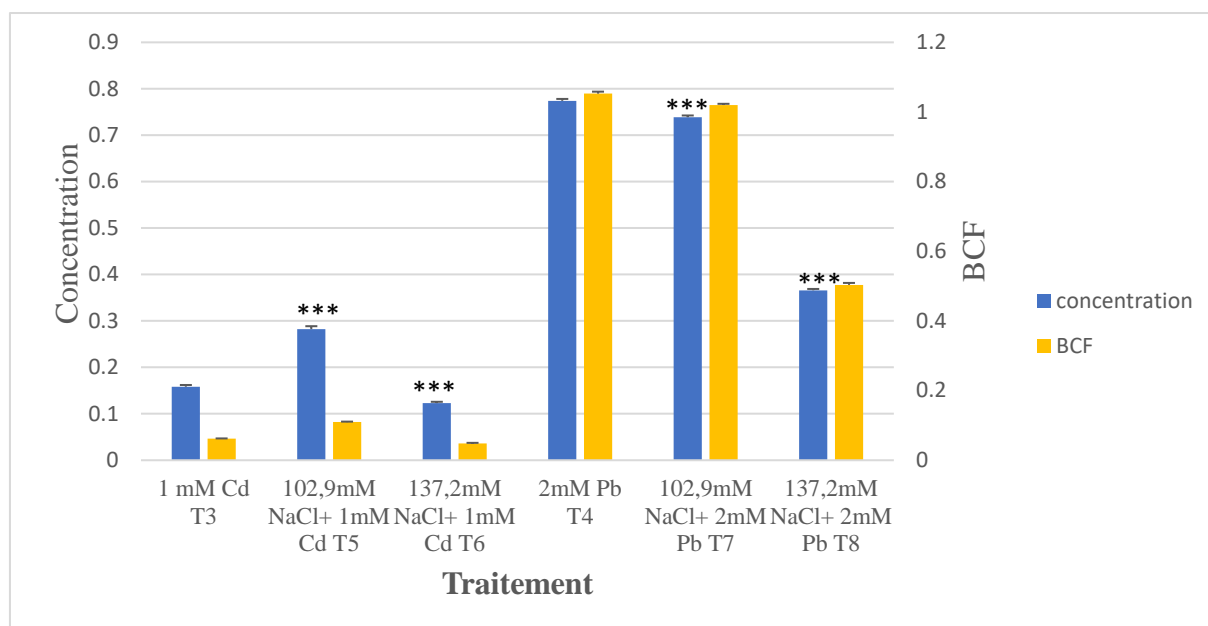


Figure 23: Teneur en Pb et Cd dans les parties aériennes de Raihane sous l'interaction Plomb-NaCl, Cd-NaCl ou Pb,Cd seul

Les résultats de la **figure 23** montrent que l'ajout de 1mM/l de Cd dans le milieu de culture en absence de chlorure de sodium donne une quantité du métal dans les parties aériennes, égale à 0,15mg/l équivalent à un BCF égale à 0,06. Par ailleurs Nous observons que l'addition du 102,9mM de NaCl avec le Cd dans le milieu de culture augmente la concentration et l'accumulation de ce dernier (0,29mg/l) et (0,1) respectivement, mais une concentration élevée de NaCl diminue sa concentration et bioaccumulation (0,12mg/l) et (0,04) respectivement. En effet, les teneurs endogènes en Cd augmentent dans la plante avec l'ajout de NaCl.

L'accumulation de Pb dans les parties aériennes marque une valeur de BCF égale à 1,05 largement supérieure que le Cd. la présence de NaCl a diminué légèrement la concentration du pb (0,73 et 0,36 mg/l) (il existe une diminution significative chez T7 par rapport T4) et augmente la valeur de BCF (1,01 et 0,5) respectivement.

Chez les plantes, la salinité est un facteur clé dans la translocation des métaux des racines vers les parties aériennes. Notre étude montre que l'accumulation de Cd et du Pb dans les feuilles et les racines de la variété Raihane augmente en fonction de la présence de NaCl dans le milieu.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Mariem et al., (2014)** obtenus avec *Sesuvium portulacastrum* qui montrent que chez les halophytes la concentration de Cd dans les feuilles n'augmente pas lorsque la concentration saline augmente dans le milieu de culture.

Chez *Sesuvium portulacastrum*, le sel empêche la translocation du Cd vers les parties aériennes. Des données similaires ont également été observées avec le plomb chez *Atriplex halimus* (Kadukova et al., 2007). En effet, Wahla et Kikham, (2008) ont montré que chez l'orge la translocation du Cd dans les feuilles est plus élevée en présence qu'en absence de NaCl dans le sol. Il apparaît clairement que le comportement du Cd et notamment sa translocation diffère d'une espèce à l'autre.

Des résultats controversés ont été obtenus par Chakroun et al., (2001) qui ont rapporté que l'orge collectée dans le district minier a été fortement contaminée par le Pb et le Cd et, dans une moindre mesure, par le Zn et le Cu. Ceci pourrait être attribué à plusieurs facteurs, notamment les variétés testées ou encore le pH du sol qui influence largement le transfert du Cd et du Pb du sol vers la plante. Il a été même démontré que les pH élevés peuvent réduire la biodisponibilité et la toxicité du Cd et du Pb (McBride et al., 1997; Gray et al., 1999).

Il est connu que le chlorure de sodium (NaCl) augmente la biodisponibilité des métaux lourds dans le sol. En effet, les ions chlorures (Cl^-) forment des complexes stables avec les ions Pb^{2+} et Cd^{2+} . Ce processus de complexation semble augmenter la mobilité des ions dans le milieu nutritif ainsi que leur biodisponibilité. Des études similaires ont été observées par Lopez-Chuken et Young, (2005) ; Ghnaya et al., (2007). De ce fait, l'enrichissement du sol en NaCl stimule le prélèvement des métaux lourds par les plantes (Xu et al., 2010).

IV.4 Effet de Cd, Pb et NaCl sur les paramètres cytogénétiques

IV.4.1 Effets de Cd, Pb et NaCl sur la variation de l'indice mitotique

Le Tableau 5 montre l'effet de différentes doses de Cd, Pb et NaCl sur le nombre de cellules en division dans les extrémités racinaires des plantules d'orge. Nous avons observé une diminution de l'indice mitotique au cours du traitement quelque soit la dose de métal ou NaCl utilisée. Cette diminution est hautement significative ($p < 0.001$). Elle est d'environ 70% et 85% par rapport au témoin pour un traitement saline de 102,9mM et 137,2mM respectivement et 59% pour un traitement cadmique de 1mM et 74% pour un traitement par le Plomb de 2mM

Tableau 5: indice mitotique

Traitement	IM(% \pm SD)
T0	13\pm 1(100)
T1	9\pm1,73 (69,23)
T2	11\pm1,73 (84,61)
T3	7,67\pm1,15*(59)
T4	9,67\pm0,57 (74,38)

SD : standard déviation ; Les valeurs entre parenthèses représentent le pourcentage par rapport au témoin

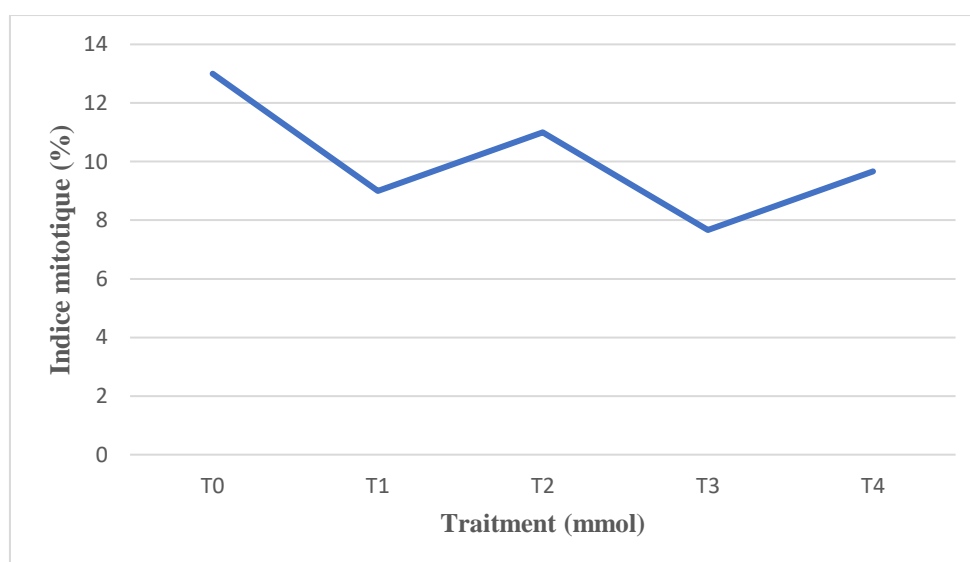


Figure 24: Index mitotique (IM %) des cellules méristématiques d'Orge traitées (T1, T2, T3 et T4) comparé aux cellules du témoin (T0).

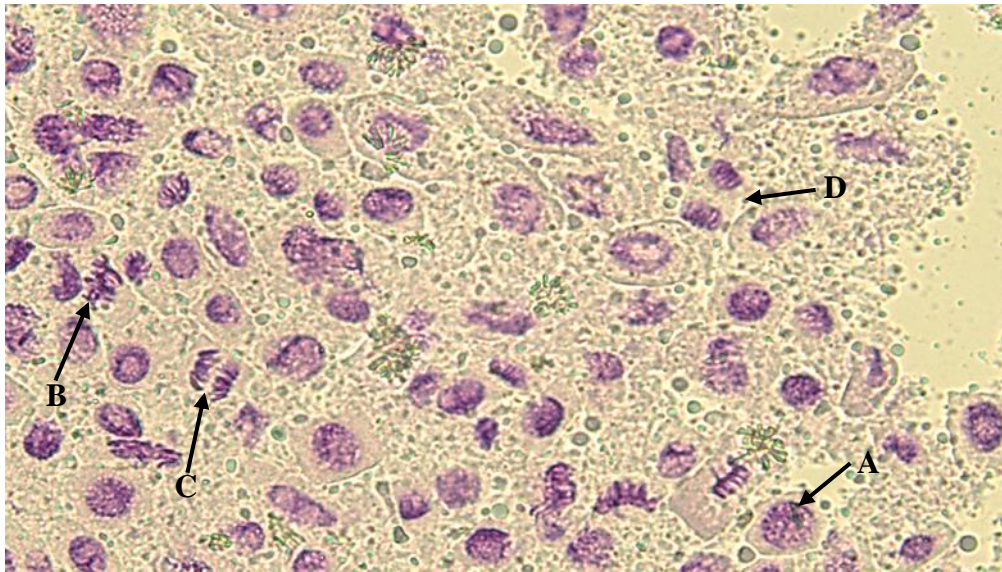


Figure 25: Différentes phases mitotiques normales (T0), A : prophase, B : métaphase, ,
C : anaphase et D: télophase. G*40

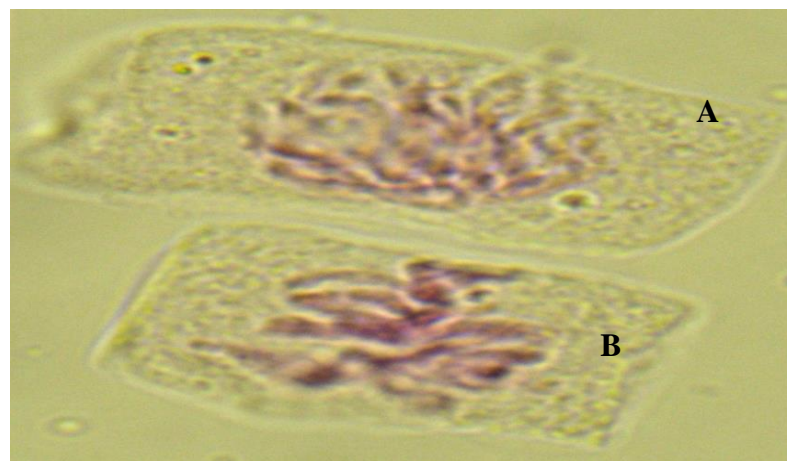


Figure 26: Deux stade de division normales A : prophase, B : métaphase G*100

IV.4.2 Effets de Cd, Pb et NaCl sur l'induction d'aberrations chromosomiques

Des essais sur les changements qualitatifs et quantitatifs sur la division cellulaire et la forme des chromosomes au cours de la division cellulaire ont été réalisés. L'observation en microscopie des extrémités racinaires d'orge soumise au traitement par le Plomb, Cd et NaCl, montre des types d'anomalies presque semblables pour les différents traitements. Parmi ces anomalies chromosomiques, on peut noter :

Des métaphases (**Figure 27B**) et anaphases anormales (**Figure 31A**). Des cellules comportant des chromosomes dont la structure est altérée (clastogénicité). Dans ce cas, on a pu détecter la présence des chromosomes adhérents ("stickiness") (**Figure 28**) et des chromosomes retardataires (**Figure 31 A**). Nous avons détecté aussi la présence de cellules à deux micronoyaux (**Figure 29**) et de vides nucléaires (**figure 30A**).

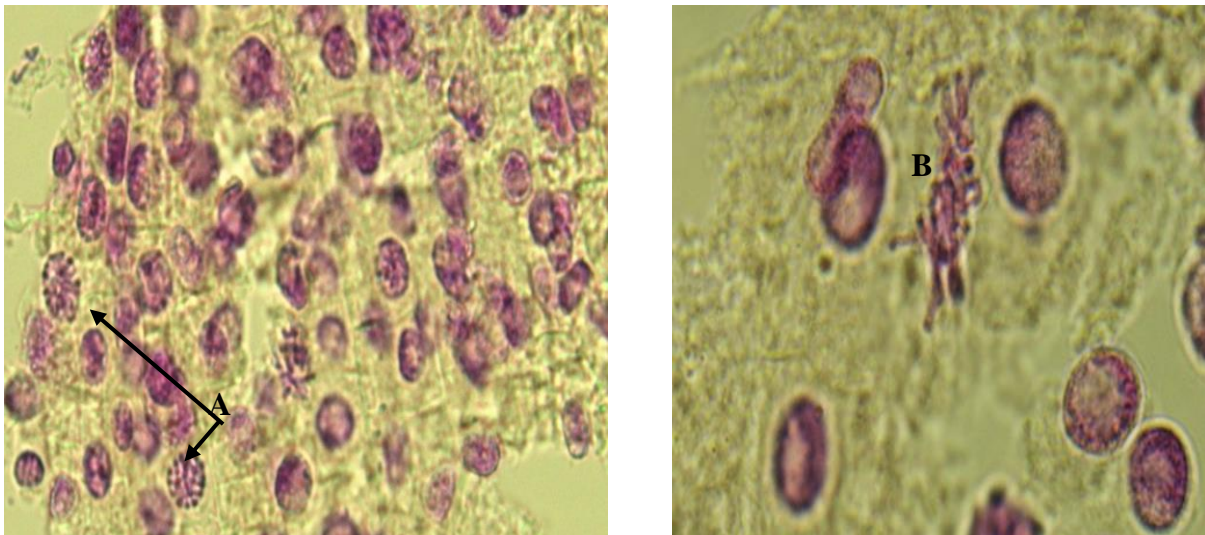


Figure 27: T1 Induction des métaphases adhérents ("stickiness") (B) et cellules atypiques (A) au niveau de la zone méristématique racinaire d'orge après 48 h d'exposition à des concentrations de 137,2mM de NaCl. G*100

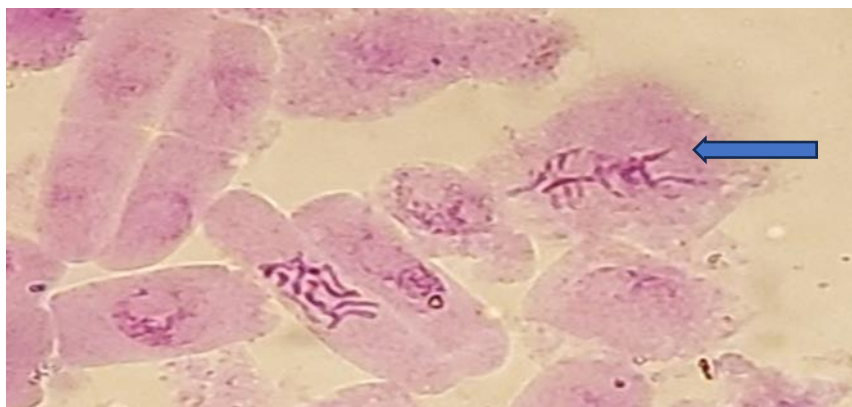


Figure 28: Induction des chromosomes adhérents (➡) ("stickiness") au niveau de la zone méristématique racinaire d'orge après 48 h d'exposition à des concentrations de 137,2mM de NaCl. G*100



Figure 29: Induction des micronoyaux après 48 h d'exposition des extrémités racinaires d'orge à une concentrations de 2mM de Pb et 137,2mM de NaCl. G*100

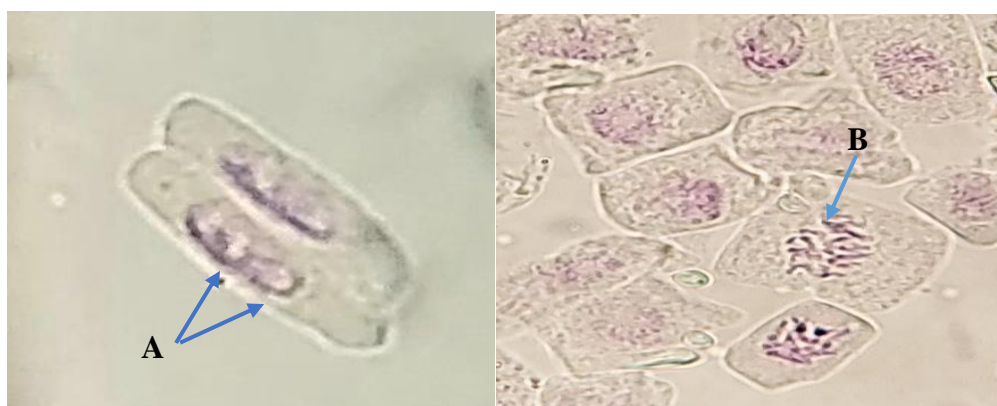


Figure 30: Cellules en division cellulaire anormale après 48 h de traitement des extrémités racinaires d'orge par 1mMCd (A : vides nucléaires, B : Cassure en métaphases) G*100



Figure 31: Cellules en division cellulaire anormale après 48 h de traitement des extrémités racinaires d'orge par 137,2Mm de NaCl (A : Chromosomes retardataires , B : C-mitose) G*100

L'indice mitotique est un paramètre expérimental largement utilisé dans les études génotoxiques de divers polluant. Pour le Cd par exemple, la diminution du nombre de cellules en division a été démontrée par **Ünyayar et al. (2006)** dans les racines de *Vicia faba* pour des concentrations équivalentes à celles utilisées dans nos conditions expérimentales (0.1mM de Cd). Outre le Cd, l'indice mitotique est aussi affectée par d'autres métaux lourds tels que le cuivre (**Jiang et al., 2000**), par un gaz tel que le SO₂ (**Yi et Meng, 2003**), par un herbicide tel que l'hydrazide maléique (**Marcano et al., 2004**), et par divers composés polluants tels que le benzoate de sodium, l'acide borique, l'acide citrique, le citrate de potassium et le citrate de sodium (**Türkoğlu, 2007**). Tous ces polluants induisent une baisse de l'indice mitotique dans les méristèmes racinaires.

Si l'indice mitotique diminue, cela indique un blocage des mitoses par les polluants. Il est accompagné de diverses anomalies qui peuvent être soit d'origine clastogéniques soit d'origine aneugéniques. D'après **Arnaud-Lamardelle (1955)**, il ne serait rigoureux de parler d'inhibiteur préprophasique car les inhibiteurs n'empêchent pas la préprophase mais seulement le passage de cette dernière à la prophase vraie.

Chez les cellules méristématiques traitées par le cadmium à une concentration de 1mM, un grand nombre de prophase a été observé comparé avec les cellules témoins après 72 heures les mêmes observations ont été mentionné par (**Fusconi et al., 2006**) sur des cellules méristématiques de *Pisum sativum*, et dans les cellules apicales des thalles de *Cladophora* sp. traitées par le cadmium à 100 µM (**Krajewska, 1996**), et un allongement du cycle cellulaire avec une extension de la phase G₂ et du stade prophase chez les cellules méristématiques d'A.

cepa après traitement par du cadmium à 30 μM . **Souguir et al., (2009)** ont enregistré une baisse qui varie avec la dose et le temps de traitement. A 48 h de traitement cadmique, l'indice mitotique est 2.4 fois plus faible que celui du témoin à une dose de 100 μM et 5 fois plus faible à une dose de 200 μM .

De même, des concentrations élevées de NaCl 150 mM, provoquent une augmentation remarquable du nombre de prophases dans les apex racinaires de *Centauria ragusina* L comparé à celui du témoin après 10 jours d'expérimentation (**Radić et al., 2005**). L'augmentation du nombre de prophase doit probablement être reliée à une intense altération de microtubules en empêchant l'assemblage des chromosomes au stade métaphase (**Fusconi et al., 2006**). Suite à ses travaux sur les cellules méristématiques d'A. cepa dans le but d'évaluer la contamination des eaux, **Hoshina (2004)** explique que l'augmentation de l'index mitotique des cellules traitées par rapport au témoin est le résultat de l'accroissement de la division cellulaire caractérisant un effet nuisible aux cellules et conduisant à une prolifération cellulaire incontrôlable.

La fixation des métaux en générale aux groupements thiols peut altérer la fonction d'autres protéines notamment les enzymes antioxydantes intervenant dans la détoxification des espèces réactives de l'oxygène ce qui va engendrer des lésions au niveau des lipides, des protéines et au niveau de l'ADN (**Ercal et al., 2001**). Le stress agit aussi sur l'ultrastructure du nucléole, induisant un changement de sa morphologie; cela suggère un blocage de la biosynthèse et/ou de la maturation des ARN ribosomiques qui se situent dans ces organites et affectent la formation du précurseur ribosomique 45S (**Marcano et al., 2000; Liu et al., 2003**).

Les résultats ont également montré que les aberrations chromosomiques dans les racines traitées présente une différence marquée par rapport au témoin. Il était évident que les métaux et le stress salin provoquent des modifications chromosomiques se traduits par des chromosomes retardataires (**figure 31A**), selon Khanna et Sharma, 2013 Les chromosomes retardataires surviennent lorsque les chromosomes ne parviennent pas à rester connectés à la fibre du fuseau qui peut se déplacer vers l'un ou l'autre des pôles.

Nos résultats ont montré qu'une forte concentration en NaCl et Pb (**figure 29**) induit une formation significative de micronoyaux. L'induction des micronoyaux chez les plantes suite à un traitement par les EMTs a été étudiée par plusieurs auteurs (**Steinkellner et al., 1998, Rosa et al., 2003; Ünyayar et al., 2006; Béraud et al., 2007**).

Nous avons pu démontrer aussi que le stress appliqué, par le Cd, Pb et le NaCl provoque une formation des chromosomes adhérente (**figure 28**), des chromosomes atypiques (**figure 27A**) et des cassures en métaphase (**figure 30B**).

En effet, ces aberrations ont été expliquées par le fait que le métal et spécifiquement le Cd entre en compétition avec le Ca^{2+} à travers sa fixation à la Calmoduline (**Liu et al., 2003**) ; protéine localisée au niveau du fuseau mitotique et intervenant dans les processus de polymérisation-dépolymérisation des microtubules (**Chuang, 1983**).

PARTIE V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

Tout au long de leur vie, les plantes sont constamment confrontées à différents types de stress qui influencent leur croissance et leur développement. Par conséquent, plus une plante est capable de développer des mécanismes de défense rapides et adaptés, moins le stress peut affecter sa survie.

Cette étude expérimentale a été entreprise dans le but d'étudier la tolérance de la variété Raihane d'orge algériennes à la salinité et aux métaux lourds, et d'identifier d'éventuels critères agro-physiologiques, biochimiques, chimiques et cytogénétiques d'évaluation du degré de tolérance.

La variété Raihane n'est pas affecté fortement par la salinité et les métaux lourds au point que le stress provoque des modifications remarquables au niveau des paramètres étudiés de la plante, cette espèce semble plus sensible aux Cd qu'au Pb.

L'interaction salinité-métaux lourds montre que la salinité favorise la tolérance de Raihane contre les métaux lourds Pb et Cd, par l'augmentation de la teneur en protéine.

Il est important aussi de noter que les teneurs en Pb et Cd enregistrées sont plus importantes au niveau des parties racinaire qu'aérienne lorsque ces métaux sont combinés avec le NaCl par rapport à l'application des métaux. En outre, la plus haute accumulation de Pb, Cd au niveau des parties racinaire est enregistré chez l'interaction de ces métaux avec du faible doses de NaCl. De plus, il semblerait que la translocation du cadmium reste assez faible par rapport au plomb, limitant ainsi l'accumulation du métal dans les feuilles.

Néanmoins l'effet positif de l'ajout des faibles doses de NaCl au solution d'arrosage contenant du Pb ou Cd pourrait avoir de nombreuses explications hypothétiques. Le NaCl a atténué l'effet délétère du polluant et exerce un effet bénéfique sur la croissance. Le niveaux des protéines et sucre solubles des plantes traités par la combinaison NaCl-Pb et NaCl-Cd étaient supérieurs à ceux des plantes exposées au Pb ou Cd seul alors le sel a exercé un effet protecteur sur la croissance de la variété Raihane. Prises ensemble, ces preuves appuient la conclusion que le NaCl peut directement développer une réponse anti-stress, qui comprend probablement l'amélioration des différentes paramètre morphologiques et biochimiques.

Au niveau du noyau cellulaire, nous avons démontré que le Cd, Pb et NaCl pourront engendrer une diminution de l'indice mitotique et une apparition d'anomalies chromosomiques touchant la structure des chromosomes dans les méristèmes racinaires.

L'effet génotoxique de différents traitement pourrait être direct ou indirect à travers l'action des ROS.

A la lumière de l'ensemble des résultats que nous avons présentés, il semble que la réponse des plantules d'orge au stress causé par le Cd, Pb et Nacl est très complexe. Il serait intéressant d'étudier l'expression des gènes d'intérêt. Cette étude pourra être approfondie par la détermination des gènes spécifiques dont la surexpression ou l'inhibition sont propres au stress abiotique.

PARTIE VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- **ADEME (2010).** Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie ; <http://www2.ademe.fr/servlet/KBaseShow?sort=-1&cid=96&m=3&catid=10157> ; 29/03/10.
- **Adriano, D. C. (2001).** Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals (Vol. 860). New York: Springer.
- **Agarwal, K., Sharma, A., Talukder, G. (1987).** Copper toxicity in plant cellular systems Nucleus 30; 131-158.
- **Ahmad P., Sarwat M., Sharma S. (2008).** Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. Journal of Plant Biology, 51, 167-173.
- **Akhtar M. J., Ullah S., Ahmad I., Rauf A., Mahmood Nadeem S., Yahya Khan M., et al. (2018).** Nickel phytoextraction through bacterial inoculation in *Raphanus sativus*. Chemosphere 190 234–242. 10.1016/j.chemosphere.2017.09.136
- **ALAYAT A (2015).** Etude de l'Impact Toxicologique de Certains Agents Chimiques sur la Qualité des Céréales : cas du Blé et de l'Orge ; these de doctorat univ anaba.
- **Ali A., Maggio A., Bressan R A., Yun D-J. (2019).** Role and Functional Differences of HKT1-Type Transporters in Plants under Salt Stress. International Journal of Molecular Sciences, 20, 1059.
- **Al-Othman, A. Ali,R. Al-Othman, A. M. Ali J. et Habila,M. A. (2016).** Assessment of toxic metals in wheat cultures on selected soils, irrigué par différentes sources d'eau, Arabe. J. Chem., , 99, S1555-S1562
- **Amtmann, A. et Sanders, D. (1999).** Mechanisms of Na⁺ uptake by plant cells. Advances in Botanical Research Incorporating Advances in Plant Pathology.29: 75-112 Analytical Biochemistry 72, 248-254.
- **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.
- **Arazi T, Sunkar R, Kaplan B, Fromm H (1999).** A tobacco plasma membrane calmodulin- binding transporter confers Ni²⁺ tolerance and Pb²⁺ hypersensitivity in transgenic plants. The Plant Journal 20: 171-182.

- **Arnaud-Lamardelle P., (1955). Recherches sur quelques problèmes relatifs à l'action des substances cinétoclassiques et mitostatiques et à leur utilisation.** Thèse de Doctorat ès Sciences inédite, Poitiers, p. 211.
- **ARRIS, S.(2008).** Etude expérimentale de l'élimination des polluants organiques et inorganiques par adsorption sous produits de céréale » Thèse de doctorat de l'université
- **Ashraf, M. (2009).**Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology advances*, 27(1), 84-93.
- **Askri, H., Rejeb, S., Jebari, H., Nahdi, H., Re- jeb, M.N. (2007).** Effect of sodium chloride on the germination of the seeds of three water melon (*Citrullus lanatus*, L.) varieties . *Sécher- esse*. 18(1), 51-55. (In French)
- **Ayed S.O., Bouhaouel, I., Naouar, S. and Slim amara, H. (2018)** What is the response of barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*) to metallic trace elements (zinc, copper and cadmium)?, *journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 58 (3), 3752-3763.
- **Ayed S.O., Bouhaouel, I., Naouar, S. and Slim amara, H. (2018).** What is the response of barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*) to metallic trace elements (zinc, copper and cadmium)?, *journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 58 (3), 3752-3763.
- **Azizi, N.N. (2017).** Effet de la Pollution par les Métaux Lourds sur *Triticum durum* Desf, universite badji mokhtar, faculté des sciences, annaba.
- **Azouz, M.M., Youssef, M.M.and Al-Omair, M.A.(2011).** Comparative evaluation of zinc and lead and their synergistic effects on growth and some physiological responses of HassawiOkra (*Hibiscus esculentus*) seedlings. *American journal of plant physiogy* 6 (6), 269-282.
- **Azouz, M.M., Youssef, M.M.and Al-Omair, M.A.(2011).** Comparative evaluation of zinc and lead and their synergistic effects on growth and some physiological responses of HassawiOkra (*Hibiscus esculentus*) seedlings. *American journal of plant physiogy* 6 (6), 269-282.
- **Baker AJM, Brooks RR (1989);** Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements - A review of their distribution, ecology and phytochemistry. In *Biorecovery*, Vol 1. AB Academic Publishers, pp 81-126
- **Baker AJM, McGrath SP, Reeves RD, Smith JAC (2000).** Metal hyper-accumulator plants: areview of the ecology and physiology of a biological resource for

phytoremediation of metal-polluted soils. In N Terry, G Banuelos, eds, Phytoremediation of contaminated soil and water. Lewis Publishers CRC, Boca Raton, pp 85-107

- **Baker, A.J.M., and Brooks, R.R. (1989).** Terrestrial higher plants which hyper accumulate metallic elements – Review of their distribution, ecology, and photochemistry. *Biorecovery* 1, 81-126.
- **Bankaji, I., Caçador, I., Sleimi, N., (2016).** Assessing of tolerance to metallic and saline stresses in the halophyte *Suaeda fruticosa*: the indicator role of antioxidative enzymes. *Ecol. Indic.* 64, 297-308.
- **Bankaji, I., Caçador, I., Sleimi, N.,(2015).** Physiological and biochemical responses of *Suaeda fruticosa* to cadmium and copper stresses: growth, nutrient uptake, antioxidant enzymes, phytochelatin, and glutathione levels. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 13058-13069.
- **Banzet N., Richaud C., Deveau Y., Kazmaier M., Gagnon J., Triantaphylides C., (1998).** Accumulation of small heat shock proteins, including mitochondrial HSP22, induced by oxidative stress and adaptive response in tomato cells. *Plant J.*, 13: 519-527.
- **Barbaroux B, Mercier G, BLAIS J-F, Morel JL, Simonnot M-O, A. (2011).** new method for obtaining nickel metal from the hyperaccumulator plant *Alyssum murale*, *Separation and Purification Technology* 83: 57-65.
- **Bassil E., Blumwald E. (2014).** The ins and outs of intracellular ion homeostasis: NHX-type cation/H⁺ transporters. *Current Opinion in Plant Biology*, 22, 1-6.
- **Bassil E., Tajima H., Liang Y-C., Ohto M-A., Ushijima K. (2011).** The Arabidopsis Na⁺/H⁺ Antiporters NHX1 and NHX2 Control Vacuolar pH and K⁺ Homeostasis to Regulate Growth, Flower Development, and Reproduction. *The Plant Cell*, 23, 3482-3497.
- **Ben Naceur M., Rahmoune C., Sdiri H., Meddahi ML., & Selmi M. (2001).** Effet du stress salin sur la croissance et la production en grains de quelques variétés maghrébines de blé. *Sécheresse*, vol 12, 167-174.
- **Benderradji, L., F. Brini, S.B. Amar, K. Kellou, J. Azaza, K. Masmoudi, H. Bouzerzour and M. Hanin. (2011).** Sodium transport in the seedlings of two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes showing contrasting salt tolerance. *Australian Journal of Crop Sciences* 5, 233-241.

- **Benjamin Obiang ONDO¹, Sylvie Carole Ondo NTYAM² et Richard Jules PRISO¹ (2020).** Effet de la phytoaccumulation du plomb, du fer et du zinc sur deux Poacées dans la zone de Kribi et de ses environs, *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 14(6): 2257-2266
- **Berlett, B.S. and Stadtman, E.R. (1997).** Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 20313-20316.
- **Berni R, Luyckx M, Xu X, Legay S, Sergeant K, Hausman JF, Lutts S, Cai G et Guerriero G (2019).** Reactive oxygen species and heavy metal stress in plants: Impact on the cell wall and secondary metabolism. *Env. Exp. Bot.*, 161, 98-106.
- **Bert V., Deram A. (1999).** Guide des phytotechnologies : utilisation des plantes dans la dépollution et la réhabilitation des sites contaminés par les métaux lourds, France, Environnement et Développement alternatif.
Biology 19, DOI 10.1007/978-3-642-02436-8_8
- **BLANCHARD, C.(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.
- **Bonoli M., Verardo V, (2004).** Antioxidant phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. *J Agric Food Chem*, 11, 52 (16), 5195-200
- **Bouchoukh I., (2010).** Comportement écophysologique de deux Chénopodiacées des genres *Atriplex* et *Spinacia* soumises au stress salin .p 16- 29- 6 -35.
- **Bouda, S. and Haddioui, A.(2011).** Effet du stress salin sur la germination de quelques espèces du genre *Atriplex*. *Nature & Technologie* 05, 72-79.
- **Boudsocq M & Laurière C (2005).** Osmotic signaling in plants. Multiple pathways mediated by emerging kinase families. *Plant Physiol.*, 138, 1185-1194.
- **Boyeldieu J. (1997).** Techniques Agricoles Fascicule. N° 2020.
- **Bradford, M.M. (1976).** A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- **Briat, J.F., Lebrun, M., (1999).** Plant responses to metal toxicity. *Plant Biology and Pathology* 322, 43-54.
- **Briggs DE. (1978).** Barley, Chapman Hall, London, 612 p.

- **Brini, F., Hanin M., Lumbreras, V., Irar, S., Pagès, M. and Masmoudi, K. (2007)** Functional characterization of DHN-5, a dehydrin showing a differential phosphorylation pattern in two Tunisian durum wheat (*Triticum durum* Desf.) varieties with marked differences in salt and drought tolerance. *Plant Sci* 172, 20–28.
- **Buchanan, B., Gruissem, W., et Jones, R.L. (2002).** *Biochemistry & Molecular and Biology of Plants* American Society of Plant Physiologists (distribution through Wiley et Sons) Monona Drive, Rockville, USA. 224 p.
- **Callahan D.L., Baker A.J.M, Kolev S.D., Wedd A.G., (2006).** Metal ion ligands in hyperaccumulating plants. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 11: 2-12.
- **Cardoso de Lima A (2023)** : Exploration de la résistance à la salinité chez deux variétés graines d'*Amaranthus cruentus*. mémoire de Master, Université catholique de Louvain .
- **Casas, S. (2005)** ;Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *Mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen (Doctoral dissertation, Université du Sud Toulon Var). 2005,314p.
- **Chaignon ,V.(2001).** Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées. Cas de sols viticoles contaminés par des fongicides. Thèse : Ecole doctorale, Sciences de l'Environnement : Système Terre, Université d'Aix-Marseille.
- **Chakroun, H.K., Souissi, F., Bouchardon, J.L., Souissi, R., Moutte, J., Faure, O., Remon, E. and Abdeljaoued, S. (2010).** Transfer and accumulation of lead, zinc, cadmium and copper in plants growing in abandoned mining-district area. *Afr J Environ Sci Technol* 4, 651–659.
- **Chaney R.L. Malik M, Yin M Li ^a, Sally L B, Eric P B, Angle J S, Baker A JM .(1997).** Phytoremediation of soil metals. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8(3), 279-284.
- **Chatterjee, J., et Chatterjee, C. (2003).** Management of phytotoxicity of cobalt in tomato by chemical measures. *Plant Science*. 64: 793-801.
- **Cheng, S. (2003).** Effects of heavy metals on plants and resistance mechanisms. *Environmental Science and Pollution Research*, 10(4), 256-264.
- **Chouti WK, Adanvei, Mama D. (2018).** Dosage du plomb et du zinc dans les cultures de l'amarante (*Amarantus cruentus*) et de la Grande morelle (*Solanum macrocarpum*): cas de quelques sites maraîchers de Porto-Novo. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 12(5): 2381-2395.
- **Chueng, W. D. (Ed) (1983)** Calcium and cell function. Academic. Press. London New York

- **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) (Doctoral dissertation, Paris, Institut national d'agronomie de Paris Grignon).
- **Clemens S., (2001).** Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta*, 212: 475-486.
- **Clemens, S., (2006).** Toxicmetal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88, 1707–19. doi:10.1016/j.biochi.2006.07.003
- **Colinet, G. (2003).** Eléments traces métalliques dans les sols: Contribution à la connaissance des déterminants de leur distribution spatiale en région limoneuse belge, Thèse de Gembloux.
- **Costa, G. and Spitz, E. (1997).** Influence of cadmium on soluble carbohydrate, free aminoacids, protein content of in vitro cultured *Lupinus albus*. *Plant Sci* 128: 131-140.
- **Crine, M. (1993).** Le traitement des eaux industrielles chargées en métaux lourds: situation actuelle et perspectives de développement. *La Tribune de l'eau*, 46(561), 3-19.
- **Cusido, R.M., Palazon, J., Altabella, T. and Morales, C. (1986).** Effect of salinity on soluble protein , free amino acids and nicotine contents in *Nicotiana rustica* L. *Plant And Soil* ,V102,n° 01, p 55-60.
- **Dal Corso G. (2012).**: Heavy metal toxicity in plants, in *Plants and heavy metals*, Furini editor Springer, p. 1-25.
- **Dal Corso G., Farinati S., and Furini A.(2010).**Regulatory networks of cadmium stress in plants, *Plant Signal Behav.* 5 : 663-667,.
- **DalCorso G., Farinati S., Maistri S., Furini A., (2008).** How plants cope with cadmium: staking all on metabolism and gene expression. *J. Integr. Plant Biol.*, 10: 1268-1280.
- **DalCorso, G., (2012).** Heavy Metal Toxicity in Plants, in: Furini, A. (Ed.), *Plants and Heavy Metals*, Springer Briefs in Molecular Science. Springer Netherlands, pp. 1–25. doi:10.1007/978-94- 007-4441-7_1.
- **Dane, F. and Dalgic, O. (2005).** The effects of fungicide benomyl (benlate) on growth and mitosis in onion (*Allium cepa* L.) root apical meristem. *Acta Biol. Hung.* 56, 119–128.

- **Daneri-Castro, S.N. – Svensson, B. – Roberts, T.H. (2016).** Barley germination: spatio-temporal considerations for designing and interpreting ‘omics’ experiments. In Jour-nal of Cereal Science, vol. 70, pp. 29 – 37.
- **Daud M.K., Suna Y., Dawooda M., Hayat Y., Variatha M.T., Wua Y.-X., Raziuddina, Mishkat U., Salahuddine, Najeeba U., Zhua S. (2008).** Cadmium-induced functional and ultrastructural alterations in roots of two transgenic cotton cultivars. Journal of Hazardous Materials 161 : 463-473.
- **Dawson I.K., Russel J., Powell W., Steffenson B., Thomas W.T.B., Waugh R., (2015).** Barley: a translational model for adaptation to climate change. New Phytologist, 206: 913-931.
de Constantine- Algérie).
- **De Jean-Pierre Jost, Yan-Chim Jost-Tse (2018).** Les plantes hyperaccumulatrices de métaux lourds livre
- **De Raissac, M. (1992).** Mécanisme d’adaptation à la sécheresse de la productivité des plantes cultivées. Agronomie Tropicale, 46-1, 29-39
- **De Vos, C.H.R., Vonk, M.J., Vooijs, R., Schat, H., (1992).** Glutathione depletion due to copper- induced phytochelatin synthesis causes oxidative stress in *Silene cucubalus*. Plant Physiology 98, 853-858.
- **Dechamp C., Meerts P. (2003).** « La phytoremédiation : Panacée pour l’environnement ou menace pour la biodiversité ? », Les Naturalistes belges, n°82, pp. 135-148.
- **Deneux-Mustin S., Roussel-debet S., Mustin C., Henner P., Munier-Lamy C., Colle C., Berthelin J., Garnier-Laplace J., leyval C., (2003).** Mobilité et transfert racinaire des éléments en traces : influence des micro-organismes du sol. Lavoisier. Londre-Paris-New York. 281 p.
- **Devi, S. R., & Prasad, M. N. V. (1999).** Membrane lipid alterations in heavy metal exposed plants. In Heavy metal stress in plants (pp. 99-116). Springer, Berlin, Heidelberg.
- **Dey S. K., Dey J., Patra S., Pothal D. (2007).** Changes in the antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in wheat seedlings exposed to cadmium and lead stress. Braz. J. Plant Physiol. 19 53–60.
- **Dietz, K.J., Baier, M., Kramer, U., (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.

- **Ditria, M. (2002)** , Tableau périodique des éléments, Faculté technologique de chimie, Split.
- **Djerah, A. and Oudjehih, B. (2015).** Effect of salt stress on the germination of sixteen varieties of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Courrier du Savoir* (20), 47-56.
- **Dubey. and Singh. (1999).** Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolizing enzymes in rice plants. *Biol Plant* 42, 233-232
- **Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton J.K., Pebers P.A. and Smith F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem* 28, 350-356.
- **Elftheriou, E. P., Krataglis, S. (1989).** Ultrastructural and morphological characteristics of cultivated wheat growing on copper polluted fields. *Bot. Acta* 102; 134-140.
- **Ercal, N., Gurer-Orhan, H., Aykin-Burns, N. (2001).** Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr. Top. Med. Chem.* 1; 529- 539.
- **Esteban Remon, (2009).** Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. Thèse de doctorat, Université Jean Monnet - Saint-Etienne, France.
- **Esteban, R.(2006).** Tolerance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. *Vegetal Biology*. Université Jean Monnet - Saint-Etienne, France
- **EUFIC (2009).** Fiche d'information : les céréales complètes. Version électronique disponible sur : <http://www.eufic.org/arti-cle/fr/expid/cereales-completes>.
- **Fiskesjo, G. (1988).** Allium test-an alternative in environmental studies: The relative toxicity of metal ions. *Mut. Res.* 197; 243-260.
- **Fundazioa E., (2012).** "Barley adapts to climate change." *ScienceDaily*. www.sciencedaily.com/releases/2012/01/120125091101.htm
- **Fusconi, A., Repetto, O., Bona, E., Massa, N., Gallo, C., Dumas-Gaudot, E. et Berta, G., (2006).** Effects of cadmium on meristem activity and nucleus ploidy in roots of *Pisum sativum* L. cv. Frisson seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 58: 253–260.

- **Gadd, G.M. and White, C. (1993).** Microbial treatment of metal pollution—A working biotechnology. *Trends Bio- technology*, 11, 353-359
- **Garcia, J.S., Gratao, P.L., Azevedo, R.A. and Arruda, M.A.Z.(2006).** Metal Contamination Effects on Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Growth and Protein Expression in Leaves During Development. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 54(22),8623-8630.
- **Gardés-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh, Z.,Jore D., (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*.91-96.
- **Garnier R. (2005).** Toxicité du plomb et de ses dérivés. EMC (Elsevier SAS, Paris). Toxicologie–Pathologie Professionnelle, 10: 1–22.
- **Gawęda, M. (2007).** Changes in the Contents of Some Carbohydrates in Vegetables Cumulating Lead, *Polish journal of environmental studies* 16-1.
- **Géological. 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.
- **Ghnaya, T., Nouairi, I., Slama, I., Messedi, D., Grignon, C., Abdelly, C., Ghorbel, MH. (2005).** Cadmium effects on growth and mineral nutrition of two halophytes: *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum*. *J Plant Physiol* 162, 1133–1140.
- **Ghnaya, T., Slama, I., Messedi, D., Grignon, C., Ghorbel, M.H. and Abdelly, C.(2007).** Cd-induced growth reduction in the halophyte *Sesuvium portulacastrum* is significantly improved by NaCl. *J. Plant. Res* 120, 309-316.
- **Ghosh M, Spingh SP (2005).** A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Applied Ecology and Environmental Research* 3: 1-18
- **Gobat J. M., Aragno M. et Matthey W. (1998) .** Le sol vivant. Bases de pédologie, biologie des sols, Presses polytechniques et universitaires romandes, vol 14, coll. gérer l'environnement, 592pp.
- **Gopalan, H. N. B. (1999).** Ecosystem health and human well being: The mission of the international programme on plant bioassays. In *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, pp. 99–102.

- **Goujon E. (2015).** Etude de la toxicité de la sulcotrione et de ses produits de photodégradation. These des doctorat, Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, Français. 150p.
- **Goupy P., Hugues M, (1999).** Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1625-34.
- **Gray, C.W., McLaren, R.G., Roberts, A.H.C. and Condrón, L.M. (1999).** Cadmium phytoavailability in some New Zealand soils. *New Zeal J Crop Hort* 27,169–179.
- **Gupta D. K., Huang H. G., Yang X. E., Razafindrabe B. H. N., Inoue M. (2010).** The detoxification of lead in *Sedum alfredii* H. is not related to but the glutathione. *J Hazard. Mater.* 177 437–444.
- **Gupta S.C., Goldsbrough P.B., (1991).** Phytochelatin accumulation and cadmium tolerance in selected tomato cell lines. *Plant Physiol.*, 97: 306-312.
- **Hall J.L., 2002.** Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J. Exp. Bot.*, 366: 1-11.
- **Hamamoto S., Horie T., Hauser F., Deinlein U., Schroeder J., Uozumi N. (2015).** HKT transporters mediate salt stress resistance in plants: from structure and function to the field. *Current Opinion in Biotechnology*, 32, 113-120.
- **Hammadache, Z., Guerrache, S., Saïb S.(2015).** Evaluation du transfert des métaux lourds dans le système sol-plante (*Phragmites australis*) dans le bassin versant d’oued NIL la région de Jijel. Mémoire master . université m’hamed bougara boumerdes.
- **Hare, P.D., Cress, W.A. and Van Staden, J. (1998).** Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environ* 21(6), 535–553
- **Hart, J. J., Welch, R. M., Norvell, U., Sullivan L. A., Kochian, L. V. (1998)** Characterization of cadmium binding, uptake and translocation in intact seedling of bread and durum wheat cultivars. *Plant physiol.* 116; 1413-1420.
- **Hasan MM, Rahman M, Skalicky M, Alabdallah NM, Waseem M, Jahan MS, Ahammed GJ, El-Mogy MM, El-Yazied AA, Ibrahim MFM et Fang XW (2021).** Ozone induced stomatal regulations, MAPK and phytohormone signaling in plants, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 6304.
- **Hebert, P. D. N. and Luiker, M. M. (1996).** Genetic effects of contaminant exposure - Towards an assessment of impacts on animal populations. *Sci. Total Environ.* 191, 23–58.

- **Hediji, H., Djebali, W., Belkadhi, A., Cabasson, C., Moing, A., Rolin, D., Brouquisse, R., Gallusci, P., Chaïbi, W. (2015).** Impact of long-term cadmium exposure on mineral content of *Solanum lycopersicum* plants: Consequences on fruit production. *South African Journal of Botany.*, 97, 176-181.
- **Henry J.R. (2000).** In An Overview of phytoremediation of lead and mercury. Insights from the chemistry of metal ion receptors. *Science* 300, 931-936.
- **Hernandez J A., Jimenez A., Mullineaux P., Sevilla F. (2000).** Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant, Cell & Environment*, 23, 853-862.
- **Hidalgo, A., Gonzalez-Reyes, J. A., Navas, P. and Garcia-Herdugo, G. (1989).** Abnormal mitosis and growth inhibition in *Allium cepa* roots induced by prophan and chlorprophan. *Cytobios* 57, 7–14.
- **Hoshina. M.M, (2004).** Evaluation of a Possible Contamination of the Waters of the Claro River – Municipality of Rio Claro, Part of the Corumbataí River Basin, with the Mutagenicity Tests Using *Allium Cepa*. 52f. Monograph (Bachelor's and Teaching degrees) – State University of São Paulo, Rio Claro, SP (in Portuguese).
- **Hsu, Y.T. and Kao, C.H. (2003).** Changes in protein and amino acid contents in two cultivars of rice seedlings with different apparent tolerance to cadmium. *Plant Growth Regul* 40, 147-155.
- **Huang, G., Bazzaz, FA. and Vanderhoef, LN. (1974).** The inhibition soybean metabolism by cadmium and lead. *Plant Physiol* 54, 122-124
- **Huynh (2009).** Impacts des métaux lourds sur l'interaction plante / ver de terre / microflore tellurique ; Thèse de Doctorat. Université Paris Est 169 p.
- **IAV, (2009).** Valorisation des Orges en Aviculture. Bulletin n°55 de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, DL: 61/1999, ISSN: 1114-0852, 4 p.
- **Jahier J., (1992) :** Techniques de cytogénétique végétale. INRA, ed., Paris. p. 181
- **Jan A.T., Azam M., Siddiqui K., Ali A., & Choi I. (2015).** Heavy Metals and Human Health : Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants, *International journal of molecular sciences*, 16(12), 29592-29630.
- **Jana,S. and Choudhuri, M. (1982)** "Senescence in submerged aquatic angiosperms: effects of heavy metals." *New Phytologist* 90(3), 477-484.

- **Ji, Q., Yang, H. and Zhang, X. (1999).** Vicia root-micronuclei assays on the clastogenicity of water samples from the Kui River near Xuzhou city, People's Republic of China. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 426, 133–135.
- **Jiang, W., Liu, D. and Li, H. (2000).** Effects of Cu²⁺ on root growth, cell division, and nucleolus of *Helianthus annuus* L. *Sci. Total Environ.* 256, 59–65
- **Juste C. (1988).** Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces du sol », *Science du sol*, Vol. 26, n°2, pp. 103-112.
- **Kabata-Pendias, A., Pendias, H., (2001).** Trace elements in soils and plants. 3rd CRC Press, Boca Raton, London, New-York, Washington D.C.
- **Kadukova, J. and Kalogerakis, N. (2007).** Lead accumulation from non-saline and saline environment by *Tamarix smyrnensis* Bunge, *European Journal of Soil Biology* 43, 216-223.
- **Kadukova, J., Kalogerakis, N. (2007) :** Lead accumulation from non-saline and saline environments by *Tamarix smyrnensis* Bunge. *Eur J Soil Biol* 43, 216–223.
- **Kameli A., DM. Losel, (1996).** Growth and sugar accumulation in durum wheat plants under water stress. *New Phytol.*, 132: 57-62.
- **Katiyar-Agarwal S., Zhu J., Kim K. (2006).** The plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter SOS1 interacts with RCD1 and functions in oxidative stress tolerance in *Arabidopsis* | *PNAS. Biological Sciences*, 103, 18816-18821.
- **Kaur G., Singh H. P., Batish D. R., Kohli R. K., (2013).** Lead (Pb)-induced biochemical and ultrastructural changes in wheat (*Triticum aestivum*) roots. *Protoplasma* 1 53–62.
- **Kaur. and Duffus. (1986).** The effect of sodium fluoride on cereal seed germination and seedling growth. *Plant, cell and environment*, 155-161p.
- **Khan, M.A. and Rizvi, Y. (1994).** The Effect of Salinity, Temperature and Growth Regulators on the Germination and Early Seedling Growth of *Atriplex griffithii* Moq. Var. *Stocksii* Boiss. *Canadian Journal of Botany*, 72, 475-479.
- **Köhler C, Merkle T, Neuhaus G (1999).** Characterisation of a novel gene family of putative cyclic nucleotide- and calmodulin-regulated ion channels in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 18: 97-104
- **Kovalchuk, O., Titov, V., Hohn, B. and Kovalchuk, I. (2001).** A sensitive transgenic plant system to detect toxic inorganic compounds in the environment. *Nat Biotech* 19, 568–572.

- **Kozhevnikova A. D., Seregin I. V., Bystrova E. I., Belyaeva A. I., Kataeva M. N., Ivanov V.B., (2009).** The effects of lead, nickel, and strontium nitrates on cell division and elongation in maize roots. *Russ. J. Plant Physiol.* 56 242–250.
- **Krajewska M., (1996).** Number of nuclei, mitotic activity and cell length in *Cladophora* sp. thallus treated with cadmium and chromium. *Acta. Soc. Bot. Pol.*, 65: 249–256.
- **Kumar M, Kesawat MS, Ali A, Lee SC, Gill SS et Kim HU (2019).** Integration of abscisic acid signaling with other signaling pathways in plant stress responses and development. *Plants*, 8, 592. doi:10.3390/plants8120592.
- **Lachhab, I., Louahlia, S., Laamarti, M. and Hammani, K. (2013).** Effect of salt stress on germination and enzyme activity in two genotypes of *Medicago sativa* International Journal of Innovation and Applied Studies ISSN 2028-9324 Vol. 3, pp, 511-51
- **Lal, N. (2010).** Molecular mechanisms and genetic basis of heavy metal toxicity and tolerance in plantes, in *Plant Adaptation and Phytoremediation*, p. 35-58
- **Lasat, M.M., Pence, N.S., Garvin, D.F., Ebbs ,S.D., Kochian ,L.V.(2000).** Molecular physiology of zinc transport in the Zn hyperaccumulator. *Thlaspidicaerulescens* .journal Exprimental Botany. 51, 71-79.
- **Le Goff ,F., Bonnomet, V.(2004) :** Devenir et comportement des métaux dans l’eau : biodisponibilité et model BLM. Rapport technique, ministère de l’écologie et du développement durable direction de l’eau, paris.
- **Leng Q, Mercier RW, Yao W, Berkowitz GA (1999) :** Cloning and first functional characterization of a plant cyclic nucleotide-gated cation channel. *Plant Physiolog* 121: 753-761
- **Liman, R., Cigerci, I. H., Akyil, D., Eren, Y. and Konuk, M. (2011).** Determination of genotoxicity of Fenaminosulf by Allium and Comet tests. *Pestic. Biochem. Physiol.* 99, 61–64.
- **Linde-Laursen I, Heslop-Harrison JS, Shepherd KW, Taketa S.(1997).** The barley genome and its relationship with the wheat genomes. A survey with an internationally agreed recommenda-tion for barley chromosome nomenclature. *Hereditas*, 126: 1-16
- **Liu X., Mak M., Babla M., Wang F., Chen G. (2014).** Linking stomatal traits and expression of slow anion channel genes HvSLAH1 and HvSLAC1 with grain yield for increasing salinity tolerance in barley. *Frontiers in Plant Science*, 5.

- **Liu, D. Jiang, W., Wang, W., Zhai, L. (1995)** : Evaluation of metal ion on root tip cells by the Allium Test. *Israel J. Plant Sci.* 43; 125-133.
- **Liu, D., Jiang, W., Gao, X. (2003)**. Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic. *Biol. Plantarum* 47(1); 79-83.
- **Lopez-Chuken, UJ. and Young, SD. (2005)**. Plant screening of halophyte species for cadmium phytoremediation. *Zeitschrift fuer Naturforschung*, 60, 236–243.
- **Ma, T. H. (1999)**. The international program on plant bioassays and the report of the follow-up study after the hands-on workshop in China. In *Mutation Research – Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, pp. 103–106.
- **Ma, T. H., Xu, C., Liao, S., McConnell, H., Jeong, B. S. and Won, C. D. (1996)**. In situ monitoring with the *Tradescantia* bioassays on the genotoxicity of gaseous emissions from a closed landfill site and an incinerator. *Mutat. Res. - Environ. Mutagen. Relat. Subj.* 359, 39–52.
- **Ma, T. H., Xu, C., Liao, S., McConnell, H., Jeong, B. S. and Won, C. D. (1996)**. In situ monitoring with the *Tradescantia* bioassays on the genotoxicity of gaseous emissions from a closed landfill site and an incinerator. *Mutat. Res. - Environ. Mutagen. Relat. Subj.* 359, 39–52.
- **Mahajan, S., Pandey, G.K., and Tuteja, N. (2008)**. Calcium- and salt-stress signaling in plants: Shedding light on SOS pathway. *Arch.Biochem. Biophys.* 471(2) : 146–158.
- **Malecka A., Piechalak A., Tomaszewska B., (2009)**. Reactive oxygen species production and antioxidative defense system in pea root tissues treated with lead ions: the whole roots level. *Acta Physiol. Plant.* 31 1053–1063.
- **Mansour A (2008)**. Heat shock activation of phospholipase C signaling pathway in tobacco cells. *Plant Stress*, 2, 131-137.
- **Marcano, L., Carruyo, I., Del Campo, A. and Montiel, X. (2002)**. Effect of Cadmium on the Nucleoli of Meristematic Cells of Onion *Allium cepa* L: An Ultrastructural Study. *Environ. Res.* 88, 30–35.
- **Marcano. L., Carruyo, I., Del campo. A., Montiel, X. (2000)**. Effect of cadmium on the nucleoli of meristematic cells on onion *Allium cepa* L.: An ultrastructural study. *Environ. Res.* 88; 30-35.
- **Marcano. L., Carruyo, M. H., Del campo. A., Montiel, A. (2004)**. Cytotoxicity and mode of action of Maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa*. *Environ. Res.* 94; 221-226.

- **Marcos L, (2001).** Etude expérimentale et Modélisation du transfert du Zinc et du Plomb dans les milieux sableux modelés. Thèse de Doctorat. Nantes: Ecole Polytechnique de l'université de Nantes, 299 p.
- **Mariem, W., Kilani, B.R., Benet, G., Abdelbasset, L., Stanley, L., Charlotte, P., Chedly, A. and Tahar, G. (2014).** How does NaCl improve tolerance to cadmium in the halophyte *Sesuvium portulacastrum*?, *Chemosphere*, 117: 243-250
- **McBride, M., Sauve, S., Hendershot, W. (1997).** Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. *Eur J Soil Sci*, 48,337–346.
- **Mclaughlin, M.J.,Zarcinas, B.A., Stevens D.P.,Cook ,N. (2000).** Soil testing for heavy metals. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 31 (11-14), 1661-1700.
- **Meharg, A.A., (1993).** The role of the plasmalemma in metal tolerance in angiosperms. *Physiologia Plantarum* 88, 191-198.
- **Memon A.R., Aktoprakligil D., Özdemir A., Vertii A., (2001).** Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants. *Turk J. Bot.*, 25: 111-121.
- **MESSAOUD Nadia et AKROUT Khaoula (2019).** Etude de l'effet du plomb sur quelques paramètres biochimiques chez les céréales, these de master, Université Larbi Tébessi -Tébessa Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie.P 31 (46).
- **Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Govindarajan, R., Kuriakose, S.V and Prasad, M.N.V. (2006).** " Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L[lozenge]." *Plant Physiology and Biochemistry* 44(1), 25-37.
- **Misra, S., Genamu, L., (1989).** Heavy metal tolerant transgenic *Brassica napus* and *Nicotiana tabacum* plants. *Theoretical and Applied Genetics* 78, 161-168.
- **Mohan, B.S. and Hosetti, B.B. (1997).** Potential phytotoxicity of lead and cadmium to *Lemna minor* grown in sewage stabilisation ponds, *Environ, Pollut*, 2, 233-238.
- **Monneveux P. (1991).** Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales. In *Amélioration des plantes par l'adaptation aux milieux aride*. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. 165-186.
- **Morel, J.L.(1997).** Bioavailability of trace elements to terrestrial plants. - Chapter 6, In : pp 141-176, J. Tarradellas, G.Bitton and D. Rossel (eds.), *Soil Ecotoxicology*, Lewis Publishers, CRC Press, Boca Raton, Fl.

- **Mouffak, A. (2009).** Etude analytique de la variabilité de la proline, des sucres solubles totaux et des protéines totales solubles, sous stress salin chez *Vigna radiata* .L Wilczek, Université d'Oran1 - Ahmed Ben Bella, faculté des sciences, Oran.
- **Mullins, G., Sommers, L. E. (1986).** Cadmium and zinc influx characteristics by intact corn (*Zea mays*) seedlings. *Plant soil* 96; 153-164.
- **Mununga KF, Mwilambwe KX, N'tambwe ND, Maloba KJP, Banza IM, Chola K A, Lwanga KM, Mpundu MM. (2018).** Vigueur de croissance de deux variétés de légumes installées sur sols contaminés à Lubumbashi (RD Congo). *J. Appl. Biosci.*, 124: 12396-12407.
- **Munzuroglu O., Geckil H., (2002).** Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 43 203–213.
- **Murphy, A., Taiz, L. (1997).** Purification and immunological identification of metallothioneins 1 and 2 from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 113; 1293- 1301.
- **Neumann D., Lichtenberger O., Günther D., Tschiersch K., Nover L., (1994).** Heat-shock proteins induce heavy-metal tolerance in higher plants. *Planta*, 194: 360-367.
- **Nguyen C T., Agorio A., Jossier M., Depré S., Thomine S., Filleur S. (2016).** Characterization of the Chloride Channel-Like, AtCLCg, Involved in Chloride Tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 57, 764-775.
- **Nicoloff, H. and Gecheff, K. (1976).** Methods of scoring induced chromosome structural changes in barley. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 34, 233–244.
- **Noctor G, Reichheld JP & Foyer C (2018).** ROS-related redox regulation and signaling in plants. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 80, 3-12.
- **Othman, Y., Al-Karaki, G., Al-Tawaha, A.R. and AlHorani, A. (2006).** Variation in germination and ion uptake in barley genotypes under salinity conditions. *World J. Agric. Sci*, 2, 11-15.
- **Paes de Melo B, Carpinetti PdA, Fraga OT, Rodrigues-Silva PL, Fioresi VS, de Camargos LF et Ferreira MFdS (2022).** Abiotic stresses in plants and their markers: A practice view of plant stress responses and programmed cell death mechanisms. *Plants*, 11, 1100.
- **Panfili G., Fratianni A and Irano M, (2003).** Normal phase high-performance liquid chromatography method for the determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. *J Agric Food Chem*, 2, 51(14), 3940-4

- **Parihar P., Singh S., Singh R., Singh VP., Prasad S M. (2015).** Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 4056-4075.
- **Parvaiz A., Azooz M M., Prasad M N V. (2013).** *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*. Springer Nature.
- **Patra M, N Bhowmik, B Bandopadhyay and A Sharma (2004).** "Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance." *Environmental and Experimental Botany* 52(3): 199-223.
- **Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, Xu BE, Karandikar M, Berman K, Cobb MH (2001).** "Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions". *Endocrine Reviews*. 22 (2): 153–83.
- **Pena, L.B., Pasquini, L.A., Tomaro, M.L. and Gallego, S.M. (2006)** Proteolytic system in sunflower (*Helianthus annuus*L.) leaves under cadmium stress. *Plant Sci*, 171, 531-537.
- **Pereira, L.B., Tabaldi, L.A., Gonçalves, J.F., Jucoski, J.O., Pauletto, M.M., Weis, S.N., Nicoloso, F.T., Borher, D., Rocha, J.B.T., et Schetinger, M.R.C. (2006).** Effect of aluminum on δ -aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) and the development of cucumber (*Cucumis sativus*). *Environ Exp Bot*.Vol. 57: 106-115.
- **Pierre Vollenweider, (2018).**Scientific Reports, volume 8, Article number: 16085
- **Pilon-Smits, E. (2005).** Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 56,15-39.
- **Piotrowska, A., Bajguz, A., Godlewska-Zylkiewicz, B., Czerpak, R. and Kaminska, M. (2009).** Jasmonic acid as modulator of Pb toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). *Environ Exp Bot* 66(3),507-513.
- **Piotrowska, A., Bajguz, A., Godlewska-Zylkiewicz, B., Czerpak, R. and Kaminska, M. (2009).** Jasmonic acid as modulator of Pb toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). *Environ Exp Bot* 66(3),507-513.
- **Pulford I.D. et Watson C., (2003).** Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees – a review. *Environ. Int.*, 29(4), 529-540.
- **Punz, W. F., Sieghardt, H. (1993).** The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals.*Environ. Exp. Bot.* 33; 85-98.

- **Radić S., Prolic M., Pavlica M., Pevalek-Kozlina B., (2005).** Cytogenetic effects of osmotic stress on the root meristem cells of *Centaurea ragusina* L. *Environmental and experimental Botany*, 54: 213 – 218.
- **Rank, J. (2003).** The method of *Allium* anaphase / telophase chromosome aberration assay. *Ekologija* 1, 38–42.
- **Rank, J. and Nielsen, M. H. (1997).** *Allium cepa* anaphase-telophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl-N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate. *Mutat. Res.* 390, 121–127.
- **Raskin I., Smith R.D. et Salt D.E.(1997).**Phytoremediation of metals: Using plants to remove pollutants from the environment. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8 (2), 221-226.
- **Rasool S., Hameed A., Azooz M., Muneeb U., Siddiqi T., Ahmad P. (2013).** Salt Stress: Causes,Types and Responses of Plants. In *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*, 1-24.
- **Rauser W.E., (1995).** Phytochelatins and related peptides. Structure, biosynthesis and function. *Plant Physiol.*, 109: 1141-1149.
- **Rauser, W.E., (1999).** Structure and function of metal chelators produced by plants. *Cell Biochemistry and Biophysics* 31, 19-48.
- **Rechachi, M.Z., Abdelhafid, Y., Menasria¹, H., Mellah, A., akhdari² F. and Hiouani F. (2020).** Salt tolerance mechanism (s) in barley (*Hordeum vulgare* L.) *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)*, 14 (1), 66-79
- **Reeves RD, Baker AJM (2000).** Metal-accumulating plants. In RaBD Ensley, ed, *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean-Up the Environment*. John Wiley and Sons, New York, pp 193-230
- **Remon ,E. (2006).** Tolerance et accumulation des métaux lourds par la vegetation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-depollution *Végétal Biology*. Université Jean Monnet - Saint-Etienne. French.
- **Rodríguez-Rosales M P., Gálvez F J., Huertas R., Aranda M N., Baghour M., Cagnac O., Venema K. (2009).** Plant NHX cation/proton antiporters. *Plant Signaling & Behavior*, 4, 265-276.
- **Saisho D., Takeda K., (2011).** Barley: emergence as a new research material of crop science. *Plant Cell Physiology*, 52: 724-727.
- **Samardakiewicz S., Wozny A., (2005).** Cell division in *Lemna minor* roots treated with lead. *Aquat. Bot.* 83 289–295.

- **Sanita Di Toppi, L., Gabbrielli, R., (1999).** Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41, 105-130.
- **Saxena, A., Saxena, D.K. and Srivastava, H.S. (2003).** The Influence of Glutathione on Physiological Effects of Lead and its Accumulation in Moss *Sphagnum squarrosum*. *Water, Air, & Soil Pollution* 143(1), 351-361.
- **Seregin, I. V., Ivanov, V. B. (2001) :** Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russ. J. Plant Physiol.* 48 (4); 606-630.
- **Sghaier, D.B., Pedro, S., Diniz, M.S., Duarte, B., Caçador, I., Sleimi, N., (2016).** Tissue localization and distribution of As and Al in the halophyte *Tamarix gallica* under controlled conditions. *Front. Mar. Sci.* 3, 274.
- **Sharma, S.S. and Dietz, K.J. (2006).** The significance of amino acids and amino-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *J Exp Bot*, 57, 711-726.
- **Shi H., Quintero F J., Pardo J M., Zhu J-K. (2002).** The Putative Plasma Membrane Na⁺/H⁺ Antiporter SOS1 Controls Long-Distance Na⁺ Transport in Plants. *The Plant Cell*, 14, 465-477.
- **Shraddha, S., Sarita, S., Rohit, S., Kavita, P. and Kavita, B. (2004).** Translocation of metals and its effects in the tomato plants grown on various amendments of tannery waste: evidence for involvement of antioxidants, *Chemosphere*, Volume 57, Issue 2, Pages 91-99
- **Shugart, L. R. (2000).** DNA damage as a biomarker of exposure. *Ecotoxicology* 9, 329–340.
- **Siedlecka, A. and Krupa, Z. (2002).** Functions of Enzymes in Heavy Metal Treated Plants *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*, pp,303-324
- **Smith, E., Nadu, R., Alston, A.M., (1998) :** Arsenic in the soil environment: a review. *Adv Agron*, vol. 64, p. 149-195.
- **Smits E.A.H.P. et Freeman J.L. (2006) :** Environmental cleanup using plants: *Soil Biochemistry*. Stotzky, G., and Bollag, J.M., Marcel Dekker Inc, New York, Basel, Hong Kong. eds. 307-404.
- **Soheir, ES., Khalil, MY. and Naguib, N.Y. (2002)** Investigation of the effect of some elements (B, Mo, Co, Pb) on growth, productivity and quality of *Cymbopogon citratus* L. *Ann. Agric. Sci*, 47(3), 911.

- **Soltner, D.2005.** les grandes productions végétales.20ème.Ed.CCTA .Pp20-140.
- **Souahi, H., Ahlem, G., Zina, G. 2017.** Growth and physiological responses of cereals species under lead stress. *International Journal of Biosciences*. 11(1): 266-273.
- **Souguir, D., Ferjani, E., Ledoigt, G., Goupil, P. (2008)** : Exposure of *Vicia faba* and *Pisum sativum* to copper-induced genotoxicity. *Protoplasma* 233(3-4); 203-207.
- **Sposito G., 1989.** The chemistry of soils. Oxford University Press, New York.
- **Stalt, J.P., Sneller, E.C., Bryngelson, T., Bryngelsson, T., Lundborg, T. and Schat, H. (2003)** Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat. *Environnemental and Experimental Botany*, 49, 21- 28.
- **Stalt, J.P., Sneller, E.C., Bryngelson, T., Bryngelsson, T., Lundborg, T. and Schat, H. (2003)** Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat. *Environnemental and Experimental Botany*, 49, 21- 28.
- **Sunkar R, Kaplan B, Bouche N, Arazi T, Dolev D, Talke IN, Maathuis FJM, Sanders D, Bouchez D, Fromm H (2000)** : Expression of a truncated tobacco NtCBP4 channel in transgenic plants and disruption of the homologous Arabidopsis CNGC1 gene confer Pb²⁺ tolerance. *The Plant Journal* 24: 533-542
- **Sunkar R, Kaplan B, Bouche N, Arazi T, Dolev D, Talke IN, Maathuis FJM, Sanders D, Bouchez D, Fromm H (2000)** Expression of a truncated tobacco NtCBP4 channel in transgenic plants and disruption of the homologous Arabidopsis CNGC1 gene confer Pb²⁺ tolerance. *The Plant Journal* 24: 533-542.
- **Tamagawa K., Fukushima S, (1998).** Proantho cyanidins from barley bran potentiate retinoic acid-induced granulocytic and sodium butyrate-induced monocytic differentiation of HL60 cells. *Biosci Biotechnol Biochem*, 62 (8), 1483-7.
- **Teaching tools in Plant Biology (TTPB), (2014).** Plant Nutrition 1: Membrane transport and Energetics, Potassium nutrition, and Sodium toxicity. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.114.tt0914>.
- **Tester M. et Davenport R. (2003)** : Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Ann. Bot.* 91: 503-527
- **Timperio A.M., Egidio M.G., Zolla L., (2008).** Proteomics applied on plant abiotic stresses: role of heat shock proteins (HSP). *J. Proteomics*, 71: 391-411.
- **Tsuda, S., Murakami, M., Matsusaka, N., Kano, K., Taniguchi, K. and Sasaki, Y. F. (2001).** DNA Damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice. *Toxicol. Sci.* 61, 92–99.

- **Türkoğlu, S. (2007)** Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L.. Mut. Res. 626; 4-14.
- **Ünyayar, S., Çelik, A., Çekiç, Ö. F., Gözel, A. (2006)** Cadmium-induced genotoxicity, cytotoxicity and lipid peroxidation in *Allium sativum* et *Vicia faba*. Mutagenesis 21(1); 77-81.
- **Valentina, K., Kirill, V. and Vladimir, K. (2010)** Plants Under Heavy Metal Stress in Saline Environments. Sherameti I. and Varma A. (eds.), Soil Heavy Metals, Soil Biology 19, DOI 10.1007/978-3-642-02436-8_8
- **Vanier P, 2006.** L'orge au fil du temps, Usages culinaire, Ecologie et Environnement. Passeportsanté.net
- **Vansuyt, G., Mench, M., Briat, J.F. (2000)** Soil-dependent variability of iron accumulation in transgenic tobacco overexpressing ferritin. Plant Physiol. Biochem. 38; 499-506.
- **Vasseur, P. and Cossu-Leguille, C. (2003).** Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety. Environ. Int. 28, 711–717
- **Vatamaniuk O.K., Mari S., Lu Y.P., Rea P.A., (2000).** Mechanism of heavy metal ion activation of phytochelatin (PC) synthase: blocked thiols are sufficient for PC synthase catalyzed transpeptidation of glutathione and related thiol peptides. J. Biol. Chem., 275: 31451-31459.
- **Verbruggen N., Hermans C., Schat H., (2009).** Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants. Curr. Opin. Plant Biol., 12: 364-372.
- **Verma S., Dubey R. S., (2003).** Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. Plant Sci. 164 645–655.
- **Vernay, P., Austry, A., Gauthier-Moussard, C. and Hitmi, A. (2009)** Germination et fonctionnement du système photosynthétique des végétaux comme bioindicateurs de pollution des sols. Etude et Gestion des sols, Vol.16, 349-357.
- **Vernay, P., Austry, A., Gauthier-Moussard, C. and Hitmi, A. (2009)** Germination et fonctionnement du système photosynthétique des végétaux comme bioindicateurs de pollution des sols. Etude et Gestion des sols, Vol.16, 349-357.

- **Vögeli-Lange R., Wagner G.J., (1990).** Subcellular localization of cadmium and cadmium-binding peptides in tobacco leaves. Implication of a transport function for cadmium-binding peptides. *Plant Physiol.*, 92: 1086-1093.
- **Von Wettstein-Knowles P. (1992).** Cloned and Mapped Genes: Current Status. In *Barley: Genetics, Biochemistry, Molecular Biology and Biotechnology*, ed. P.R. Shewry. Wallingford, UK: CAB International, pp. 73-98.
- **Wahla, I.H. and Kirkham, M.B. (2008)** Heavy metal displacement in salt-water-irrigated soil during phytoremediation. *Environmental Pollution*, 155, 271-283.
- **Wahla, I.H. and Kirkham, M.B. (2008)** Heavy metal displacement in salt-water-irrigated soil during phytoremediation. *Environmental Pollution*, 155, 271-283.
- **Wu H., Li Z. (2019).** The Importance of Cl⁻ Exclusion and Vacuolar Cl⁻ Sequestration: Revisiting the Role of Cl⁻ Transport in Plant Salt Tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 10.
- **Xu, J., Yin, H., Liu, X. and Li, X. (2010)** Salt affects plant Cd-stress responses by modulating growth and Cd accumulation. *Planta*, 231,449-459.
- **Xu, J., Yin, H., Liu, X. and Li, X. (2010)** Salt affects plant Cd-stress responses by modulating growth and Cd accumulation. *Planta*, 231,449-459.
- **Yan, Chim Jost-Tse and Jean-Pierre, J. (2018)** Les Plantes hyperaccumulatrices de métaux lourds, Connaissances et Savoirs édition, France, pp, 9-163.
- **Yan, Chim Jost-Tse and Jean-Pierre, J. (2018)** Les Plantes hyperaccumulatrices de métaux lourds, Connaissances et Savoirs édition, France, pp, 9-163.
- **Yi, H., Meng, Z. (2003)** Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of *Allium sativum* and *Vicia faba*. *Mut. Res.* 537; 10-114.
- **Yousofinia, M., Ghassemian, A., Sofalian, O. and Khomari, S. (2012)** Effects of salinity stress on barley (*Hordeum vulgare*, L.) Germination and seedling growth. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, Vol. 4, 1353-1357.
- **Yousofinia, M., Ghassemian, A., Sofalian, O. and Khomari, S. (2012)** Effects of salinity stress on barley (*Hordeum vulgare*, L.) Germination and seedling growth. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, Vol. 4, 1353-1357.
- **Zadoks J. C., Chang T., and Konzak F. (1974)** :A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, Volume14: 415 – 421.
- **Zhao C., Zhang H., Song C., Zhu J-K., Shabala S. (2020).** Mechanisms of Plant Responses and Adaptation to Soil Salinity. *The Innovation*, 1, 100017