



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THESE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE DOCTORAT

Spécialité: **BIOLOGIE VEGETALE**

Intitulé

**Effet de la Pollution par les Métaux Lourds sur
Triticum durum Desf.**

Présentée par : **Azizi Nadia Nawel**

Membres de Jury:

M ^{me} BERRABAH Houria	(Pr.)	Présidente	Université Badji Mokhtar, Annaba
M ^r DJEBAR Med Réda	(Pr.)	Directeur de thèse	Université Badji Mokhtar, Annaba
M ^{me} SERIDI Ratiba	(Pr.)	Examinatrice	Université Badji Mokhtar, Annaba
M ^r SOLTANE Mahmoud	(Pr.)	Examineur	Université Chadli Benjedid, El-Tarf
M ^r MEZEDJRI Lyamine	(Pr.)	Examineur	Université 20 Aout 55, Skikda
M ^{me} KHATI Willia	(M.C.A.)	Examinatrice	Université Chadli Benjedid, El-Tarf

Année universitaire: 2016 / 2017

الملخص

هذا العمل يهدف إلى تقييم تأثير العناصر النادرة (Cu,Cd) و العناصر المعدنية (Cu,Ca) و تفاعلاتها (Cu/Cd) (Mg/Cd,Ca/Cd) على النسبة المئوية المتوسطة للإنبات, عدد الجذور, معدل سرعة النمو للجذور القمح الصلب صنف (Siméto), كمية البروتينات و بعض المؤشرات الحيوية للإجهاد: ال (Cat), (GSH) و ال GST عند الجذور و الأوراق.

يطبق العلاج على أساس تراكيز (5,20,50) ميكرو مولار من Mg,Ca,Cu مزدوجة أو لا مع 100µM من Cd. النتائج المتحصل عليها تبين ارتفاع نسبة الانبات للعناصر Mg,Ca,Cu للنوعين من العلاج. عدد الجذور ينخفض مع ال Cd و العلاج المزدوج كما تم تسجيل تثبيط في معدل النمو للجذور مع التراكيز المرتفعة ل Mg, Ca 5µM, من ال Cu أما 100m من ال Cd فهي تحفز نمو الجذور في 96 ساعة الأولى من العلاج. بينما العلاج المزدوج Mg/Cd, Cu/Cd يثبطه بالنسبة لكمية البروتينات فهي ترتفع مع التراكيز المرتفعة ل Mg,Ca,Cu و Cd مع العلاج المزدوج (Cu/Cd, Mg/Cd) بالتراكيز المنخفضة عند الجذور.

هناك تحفيز لنشاط ال GSH عند 5µM من Cu و التراكيز المنخفضة ل Mg/Cd , Cu/Cd بينما 100µM من ال Cd يثبطه كما نلاحظ تثبيط لنشاط ال GSH عند الأوراق ل Cu/Cd .

نشاط ال CAT عند الجذور يعتبر محفز تناسيبا مع التراكيز المختلفة ل Mg و Mg/Cd عكس لتراكيز Cu المختلفة و 100µM من ال Cd أين نلاحظ انخفاض ال CAT أما العلاج المزدوج Cu/Cd فهو يحفز نشاط ال CAT باستثناء التركيز µM (50/100) نلاحظ نفس الشيء عند الأوراق المعالجة بتراكيز ال Mg البسيطة و المزدوجة و بشكل هام لتركيز 100µM من Cd عكس النحاس (Cu) .

الكلمات المفتاحية

تلوث. *Triticum durum* Desf., الاجهاد المؤكسد, Mg,Ca,Cu,Cd,CAT,GST,GSH.

Résumé

Ce travail vise à évaluer les effets des éléments traces métalliques (Cu, Cd) et des éléments minéraux (Mg et Ca) ainsi que leurs interactions (Mg/Cd, Ca/Cd et Cu/Cd) sur le pourcentage moyen de germination, le nombre moyen ainsi que la vitesse de croissance des racines de blé dur (Var. *Siméto*), la quantité de protéines totales et certains biomarqueurs de stress à savoir : l'activité catalase (CAT), le glutathion et la GST chez les racines et les feuilles de blé.

Un traitement à base de concentrations croissantes de 5, 20, 50 μM de Ca, Mg et Cu combiné ou non à 100 μM de cadmium est appliqué. Les résultats obtenus montrent une augmentation du pourcentage de germination pour le Mg, Ca et Cu pour les deux types de traitements, le nombre de racine lui, diminue avec le Cd et les traitements combinés ; une inhibition de la vitesse de croissance chez les racines est constatée pour les concentrations croissantes de Mg et Ca, 5 μM de Cu et 100 μM de Cd qui lui, stimule la croissance durant les premières 96h, alors que le traitement combiné Mg/Cd, Cu/Cd la freine. La quantité de protéines totales subit des augmentations pour le Mg, Ca, Cu et Cd à fortes concentrations et (Mg, Ca et Cu)/ Cd à faibles concentrations chez les racines. Aussi une induction du taux de GSH est constatée à 5 μM de Cu et aux faibles concentrations de Mg/Cd et Cu/Cd alors que 100 μM de Cd freine la production de GSH des racines de blé. Chez les feuilles, seules les faibles concentrations de Cu/Cd freine la production de GSH.

Parallèlement, l'activité catalase chez les racines de blé est stimulée de façon proportionnelle aux différentes concentrations de Mg et Mg/Cd chez les racines. Contrairement aux concentrations croissantes de Cu et de Cd (100 μM) où l'on constate une diminution significative. Le traitement combiné (Cu/Cd) augmente quant à lui l'activité catalase sauf à la plus forte concentration (50/100 μM). Il est de même chez les feuilles où l'on constate une induction de l'activité pour les traitements simples et combinés à base de Mg et de façon très significative pour 100 μM de Cd contrairement au cuivre.

Mots clés : *Triticum durum* Desf., Pollution, Mg, Ca, Cu, Cd, CAT, GST, GSH, Stress oxydant.

Abstract

The aim of this work is to evaluate the effects of metallic trace elements (Cu, Cd) and mineral elements (Mg and Ca) and their interactions (Mg/Cd, Ca/Cd and Cu/Cd) on the average percentage of germination, Average number and the growth rate of durum wheat roots (Var *Siméto*), amount of total proteins and some stress biomarkers, namely catalase (CAT), glutathione and GST in roots and Leaves of wheat.

A treatment based on increasing concentrations of 5,20,50 μ M Ca, Mg and Cu combined or not with 100 μ M cadmium is applied. The results obtained show an increase in the percentage of germination for Mg, Ca and Cu for the two types of treatments, the number of roots it, decreases with the Cd and the combined treatments; An inhibition of the growth rate in the roots is observed for the increasing concentrations of Mg and Ca, 5 μ M Cu and 100 μ M Cd which stimulates growth during the first 96 h, whereas the combined treatment Mg/Cd, Cu/Cd brakes. The amount of total protein undergoes increases for Mg, Ca, Cu and Cd at high concentrations and (Mg, Ca and Cu) / Cd at low concentrations in the roots. Also an induction of the level of GSH is observed at 5 μ M Cu and low concentrations of Mg/Cd and Cu/Cd whereas 100 μ M of Cd inhibits the production of GSH of the roots of wheat. In leaves, only low Cu / Cd concentrations inhibit GSH production.

At the same time, the catalase activity in wheat roots is stimulated in proportion to the different concentrations of Mg and Mg / Cd in the roots. In contrast to the increasing concentrations of Cu and Cd (100 μ M) where there is a significant decrease. The combined treatment (Cu / Cd) increases the catalase activity except at the highest concentration (50/100 μ M). It is the same in the leaves where one finds an induction of the activity for the simple and combined treatments based on Mg and very significantly for 100 μ M of Cd unlike the copper.

Keywords: *Triticum durum* Desf., Pollution, Mg, Ca, Cu, Cd, CAT, GST, GSH, oxidative stress.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Réduction monovalente de l'oxygène (Souhbir, 2009).	12
2	Différentes formes de cuivre dans le sol en fonction des échanges entre les compartiments du sol (Anatole Monnier, 2014).	29
3	Dispositif expérimental.	51
4 a	Effet du Mg sur le PMG des graines de blé.	55
4 b	Effet du Mg/Cd sur le PMG des graines de blé.	55
5 a	Effet du Ca sur le PMG des graines de blé.	56
5 b	Effet du Ca/Cd sur le PMG des graines de blé.	56
6 a	Effet du Cu sur le PMG des graines de blé.	57
6 b	Effet du Cu/Cd sur le PMG des graines de blé.	57
7	Effet du Cd sur le PMG des graines de blé.	58
8 a	Quantité de protéines totales des racines de blé traitées par différentes concentrations de Mg.	62
8 b	Quantité de protéines totales des racines de blé traitées par différentes concentrations de Mg/Cd.	62
9 a	Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Mg.	63
9 b	Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Mg/Cd	63
10a	Quantité de protéines totales des racines de blé traitées par différentes concentrations de Ca	64

10b	Quantité de protéines totales des racines de blé traitées par différentes concentrations de Ca/Cd.	64
11a	Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Ca.	64
11b	Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Ca/Cd.	64
12a	Quantité de protéines totales des racines de blé traitées par différentes concentrations de Cu.	65
12b	Quantité de protéines totales des racines de blé traitées par différentes concentrations de Cu/Cd.	65
13a	Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Cu.	66
13b	Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Cu/Cd.	66
14a	Quantité de protéines totales des racines de blé traitées par 100µM de Cd.	66
14b	Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées par 100µM de Cd.	66
15a	L'activité CAT des racines de blé traitées par différentes concentrations de Mg.	67
15b	L'activité CAT des racines de blé traitées par différentes concentrations de Mg/Cd.	67
16a	L'activité CAT des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Mg.	68
16b	L'activité CAT des feuilles de Blé traitées par différentes concentrations de Mg/Cd.	68
17a	L'activité CAT des racines de blé traitées par différentes concentrations de Ca.	69
17b	L'activité CAT des racines de blé traitées par différentes concentrations de Ca/Cd.	69
18a	L'activité CAT des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Ca.	69
18b	L'activité CAT des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Ca/Cd.	69
19a	L'activité CAT des racines de blé traitées par différentes concentrations de Cu.	70
19b	L'activité CAT des racines de blé traitées par différentes concentrations de Cu/Cd.	70
20a	L'activité CAT des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Cu.	71
20b	L'activité CAT des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Cu/Cd.	71
21	L'activité CAT des racines de blé traitées par 100µM de Cd.	71
22	L'activité CAT des feuilles de blé traitées par 100µM de Cd.	72

23a	L'activité GST des racines de blé traitées à différentes concentrations de Mg.	73
23b	L'activité GST des racines de blé traitées à différentes concentrations de Mg/Cd.	73
24a	L'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Mg.	73
24b	L'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Mg/Cd.	73
25a	L'activité GST des racines de blé traitées à différentes concentrations de Ca.	74
25b	L'activité GST des racines de blé traitées à différentes concentrations de Ca/Cd.	74
26a	L'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Ca.	75
26b	L'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Ca/Cd.	75
27a	L'activité GST des racines de blé traitées à différentes concentrations de Cu.	75
27b	L'activité GST des racines de blé traitées à différentes concentrations de Cu/Cd.	75
28a	L'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Cu.	76
28b	L'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Cu/Cd.	76
29	L'activité GST des racines de blé traitées à 100µM de Cd.	76
30	L'activité GST des feuilles de blé traitées à 100µM de Cd.	77
31a	Taux de GSH des racines de blé traitées par différentes concentrations de Mg.	78
31b	Taux de GSH des racines de blé traitées par différentes concentrations de Mg/Cd.	78
32a	Taux de GSH des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Mg.	78
32b	Taux de GSH des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Mg/Cd.	78
33a	Taux de GSH des racines de blé traitées par différentes concentrations de Ca.	79
33b	Taux de GSH des racines de blé traitées par différentes concentrations de Ca/Cd.	79
34a	Taux de GSH des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Ca.	80
34b	Taux de GSH des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Ca/Cd.	80
35a	Taux de GSH des racines de blé traitées par différentes concentrations de Cu.	80
35b	Taux de GSH des racines de blé traitées par différentes concentrations de Cu/Cd.	80

36a	Taux de GSH des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Cu.	81
36b	Taux de GSH des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Cu/Cd.	81
37	Taux de GSH des racines de blé traitées par 100 μ M de Cd.	81
38	Taux de GSH des feuilles de blé traitées par 100 μ M de Cd.	82

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Transporteurs membranaires de Cd identifiés chez les plantes.	26
2	Transporteurs cellulaires du Cu et leur fonction.	37
3	Caractéristiques de la Variété <i>Siméto</i> .	48
4	Solution nutritive d'Hooshang.	50
5	Effet du Mg, Mg/Cd sur le nombre moyen de racines de blé en fonction du temps.	58
6	Effet du Ca et Ca/Cd sur le nombre moyen de racines de blé en fonction du temps.	59
7	Effet du Cu et Cu/Cd sur le nombre moyen de racines de blé en fonction du temps.	59
8	Effet du cadmium $CdCl_2$ sur le nombre moyen de racines de blé en fonction du temps.	60
9	Effet du Mg, Ca, Cu et Cd sur la vitesse moyenne de croissance des racines de blé en fonction du temps (cm/j).	60
10	Effet du Mg/Cd, Cu/Cd, Ca/Cd sur la vitesse moyenne de croissance des racines de blé en fonction du temps (cm/j).	61

Liste des abréviations

(γ -Glu-Cys)n-Gly : (Alpha glutamine-Cystéine)n- glycine.

ABA: acide abscissique.

ABC : ATP Binding Cassette.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

APOD : Ascorbate peroxydase.

APOX : ascorbate peroxydase.

ARN : Acide ribonucléique.

As : Arsenique.

AS : Ascorbate.

ATHMA3 et PIB⁻² : type d'ATPase.

ATP: Adénosine triphosphate.

B : bore.

BSA : Bovine Serum Albumine.

Ca/Cd : Calcium/Cadmium.

Ca: Calcium.

CAT : catalase.

Cd: Cadmium.

CDF: Cation Diffusion Facilitator.

CDNB : 2,4 Dinitrochlorobenzene.

CDNB-GSH : 2,4 Dinitrochlorobenzene glutathion.

CdSO₄ : Sulphate de Cadmium.

Cl : Chlore.

COPT: Copper transporter protein.

Cu/Cd : Cuivre/Cadmium.

Cu: Cuivre.

Cu65 : cuivre 65 isotope du cuivre.

Cu-MO : Complexe cuivre matière organique.

Cu-oxyde de Fe, Mn, Al : Complexe cuivre-oxyde de fer, Manganèse, Aluminium.

DTNB : 5,5'- dithio-bis-(acide 2- nitrobenzoïque).

EDTA : Acide éthylène-diamine-tétraacétique.

ETM : Elément trace métallique.

Fe : Fer.

Ger : germination.

g-GCS: g-glutamylcystéine synthase.

GPOD : glutathion peroxydase.

GR : glutathion réductase.

GSH : glutathion .

GST : glutathion S-Transférase.

H: humidité.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HMA: Heavy metal ATPase.

K: potassium.

LCT1: Low Affinity Cation Transporter 1.

Lg Moy : longueur moyenne.

LMW : Low Molecular Weight.

Mg/Cd : Magnésium/cadmium.

Mg: Magnésium.

Mn : Manganèse.

Mo : Molibdène.

MOD: Matière Organique Dissoute.

MS: matière sèche.

MT1, MT2, MT3, MT4: Mutants des Métallothionéines.

MTs: Métallothionéines.

N ramp : Natural Resistance Associated.

Na⁺: sodium.

NaCl : Chlorure de Sodium.

Ni : Nickel.

P: phosphore.

Pb : Plomb.

PC-Cd : phytochélatine-cadmium.

PC_S : phytochélatines.

PMG : Pourcentage moyen de germination.

POD : peroxydases.

PS: phytochélatine synthase.

PSI : Photosystème I.

PSII : Photosystème II.

ROS : Reactive Oxygen Species.

SO₄: ion sulphate.

SOD : Superoxyde Dismutase.

Uq : Ubiquinone.

V1, V2 : vitesse de croissance.

VJ : vitesse journalière.

ZIP : ZRT. IRT- like Proteins.

Zn : Zinc.

Dédicaces

C'est avec une très grande émotion que je dédie ce travail de thèse à la mémoire de mon père Allias « Didi » dieu ait pitié de son âme. Lui qui a toujours aimé les personnes studieuses et avait un très grand respect pour celles qui étaient assoiffées de science et de savoir.

C'est pour toi mon papa adoré ; toi qui chaque matin me pressait du jus d'orange et m'achetait des croissants pour me donner l'énergie suffisante pour attaquer la journée ; qui prenait toujours de mes nouvelles et qui si je l'appelais pour quoi que ce soit accourait pour m'aider. You are the best PAPA.

Ce travail est aussi dédié à ma maman que j'adore que dieu la garde auprès de nous le plus longtemps possible et qui m'a toujours dit : alors ma fille c'est pour quand cette thèse? Et dieu c'est que cette question était un sujet de dispute entre nous ; mais je sais que c'était pour mon bien.

A ma sœur Mia qui m'a toujours encouragée à sa façon, à mon frère Slim, au seul et l'unique beau frère Kamani qui a mis sa voiture à mon entière disposition.

A ma Superbe nièce Samsouma Bent El Houma qui m'a beaucoup aidée pour le cauchemar des références bibliographiques, à Sarou dite Hama et à mon petit gatou et trésor Akram dieu le garde et le protège.

Remerciements

Mes vifs remerciements s'adressent à Mme Berrabbah Houria Professeur à l'Université de Badji Mohktar Annaba pour avoir accepté de présider mon jury.

Ma gratitude, mon éternelle reconnaissance, ainsi que mon respect, s'adressent à mon Illustre directeur de Thèse Monsieur Djebbar Mohamed Réda, Professeur à l'Université de Badji Mokhtar Annaba, qui a toujours fait preuve de gentillesse et de patience « dieu sait que j'en ai abusé » à mon égard. Pour ses encouragements et critiques très constructives tout au long de ce périple, il a œuvré non sans mal pour que ma thèse se déroule dans les meilleurs conditions possibles en mettant à ma disposition tous les moyens humains, matériels et scientifiques ; vous m'avez appris l'autonomie, à être dégourdie et à toujours aller de l'avant je vous serais éternellement redevable merci et mille merci Monsieur Djebbar.

Je tiens à remercier également Mme Séridi Ratiba Professeur à l'Université de Badji Mohktar Annaba de m'honorer de sa présence ; je suis ravie de vous compter parmi mon jury pour examiner ce travail.

Je remercie également Monsieur Soltane Mahmoud Professeur à l'Université Chadli Benjedid d'El Tarf de me faire le plaisir d'accepter d'examiner ce travail.

Je remercie tout aussi chaleureusement Monsieur Mezedjri Lyamine Professeur à l'Université 20 Aout 55 Skikda d'avoir accepté de juger ce travail.

En fin, je remercie Mme Khati Willia Maître de Conférences « A » à l'Université Chadli Benjedid d'El Tarf de me gratifier de sa présence en acceptant d'examiner ce travail.

Je tiens aussi à remercier toutes les personnes qui ont participé de loin ou de près à l'élaboration de ce travail, une mention très spéciale pour ma grande amie (la seule et l'unique) Mme Sbartai Hana qui a contribué de façon très hautement significative à l'aboutissement de ce travail (merci infiniment).

Résumé en Arabe	
Résumé en français	
Résumé en Anglais	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des Abréviations	
Dédicaces	
Remerciements	

Sommaire

Introduction

Chapitre1 Synthèse Bibliographique.....	1
1.1. Pollution par les métaux lourds.....	1
1.1.1. Les métaux lourds.....	1
A. Définition.....	1
B. Sources.....	2
- <i>Sources naturelles</i>	2
- <i>Sources anthropiques</i>	3
1.1.2. Cas du cadmium.....	3
<i>Les végétaux principale voie d'entrée du cadmium dans la chaine alimentaire</i>	4
1.1.2.1. Toxicité du cadmium.....	4
1.1.2.2. Facteurs influençant la biodisponibilité du cadmium dans le sol.....	5
Formes du cadmium dans le sol.....	5
Effet du pH	6
Effet de la matière organique.....	6
Effet des compétitions ou des synergies entre éléments chimiques.....	6
La température du sol.....	8
1.1.3. Cadmium et plantes.....	8
A. Phytotoxicité du cadmium.....	8
B. Effet du cadmium sur la croissance.....	8
C. Effet du cadmium sur la photosynthèse.....	9
1.1.4. Induction d'un stress oxydant par le cadmium.....	11

A. Définition d'un stress oxydant.....	11
B. Système antioxydant.....	13
1.1.5. Réponses des plantes au cadmium.....	14
1.1.5.1. La chélation et la séquestration du cadmium.....	14
A. Les chélateurs spécifiques.....	14
• Les phytochélatines.....	14
• Les métallothionéines.....	15
B. Les autres chélateurs.....	16
1.1.5.2. La séquestration avec les antiports Cd^{2+}/H^{+}	17
1.1.5.3. Autres stratégies de défense.....	18
1.1.6. Prélèvement, accumulation et transport du cadmium.....	18
A. Prélèvement du cadmium.....	18
-Prélèvement via la voie atmosphérique.....	19
-Prélèvement racinaire du cadmium.....	19
<i>Les espèces de cadmium prélevées par les racines</i>	19
<i>Les mécanismes de prélèvement racinaire</i>	20
B. Accumulation du cadmium.....	21
• Variabilité interspécifique d'accumulation de cadmium.....	21
• Variabilité intraspécifique d'accumulation de cadmium.....	21
• Variabilité d'accumulation de cadmium entre les organes.....	22
Accumulation du cadmium à l'échelle cellulaire.....	23
C. Transport du cadmium à longue distance.....	24
- Systèmes de transport.....	25
<i>Les transporteurs pouvant transporter le cadmium</i>	25
1.1.7. Cas du cuivre.....	27
A. Sources de cuivre dans les sols.....	27
Le cuivre dans les différents compartiments du sol.....	28
Biodisponibilité du cuivre dans le sol.....	29
B. Impact des pratiques viticoles sur la disponibilité du cuivre.....	29
1.1.7.1. Le cuivre dans la plante.....	31
<i>Le cuivre, un oligo-élément pour les plantes</i>	31
<i>Teneurs en cuivre dans la plante</i>	32

1.1.7.2. Phytotoxicité cuprique.....	33
- <i>Effet sur la photosynthèse</i>	35
- <i>Effet à l'échelle cellulaire</i>	36
1.1.7.3. Les transporteurs du cuivre.....	36
1.1.7.4. Le cuivre induit un stress oxydant.....	37
1.1.8. La nutrition minérale une solution pour atténuer les effets toxiques des métaux lourds (Cd et Cu).....	39
A. Les minéraux dans le sol.....	39
B. Elément étudiés.....	40
• Le magnésium Mg^{2+}	41
Besoin de la plante en Magnésium.....	41
- Facteur limitant la disponibilité du Mg.....	41
Interaction du Mg avec d'autres éléments.....	42
• Le Calcium.....	43
<i>Besoin de la plante en calcium</i>	43
<i>Interaction avec d'autres éléments</i>	44
C. Effets du cadmium sur la nutrition minérale.....	44
1.1.9. Cas du blé.....	45
1.1.10. But du travail.....	46
Chapitre 2 : Matériels et Méthodes.....	47
2.1. Matériel expérimental.....	47
2.2. Culture des graines en Boite de Petri.....	48
• Choix des graines.....	48
• Conditions de culture.....	49
• Traitement des graines.....	49
2.3. Mesure des paramètres germinatifs.....	49
2.3.1. Pourcentage moyen de germination.....	49
2.3.2. Nombre moyen de racines.....	49
2.3.3. Longueur moyenne des racines.....	49
2.4. Essai en pots.....	50
• Dispositif expérimental.....	50
2.5. Techniques analytiques.....	51

2.5.1. Dosage des Protéines totales.....	51
2. 5.2. Dosage des Biomarqueurs.....	52
A. Dosages Enzymatiques.....	52
▪ Préparation de l'extrait enzymatique.....	52
Quantification des mesures spectrophotométriques.....	52
▪ Dosage de l'activité Catalase (CAT).....	53
Dosage de l'activité Glutathion S-Transférase (GST).....	53
B. Le Dosage non Enzymatique.....	53
• Le Glutathion (GSH).....	53
2.6. Analyses statistiques.....	54
Chapitre 3 Résultats.....	55
3.1. Essai en Boite de Petri.....	55
3.1.1. Paramètres Physiologiques.....	55
A. Pourcentage Moyen de Germination (PMG).....	55
- <i>Effet du Magnésium</i>	55
- <i>Effet du Calcium</i>	56
- <i>Effet du Cuivre</i>	57
- <i>Effet du Cadmium</i>	58
B. Nombre moyen de racine.....	58
- <i>Effet du Magnésium</i>	58
- <i>Effet du calcium</i>	59
- <i>Effet du Cuivre</i>	59
- <i>Effet du Cadmium</i>	60
C. Longueur moyenne des racines.....	60
- <i>Effet des traitements simples</i>	60
- <i>Effet des traitements combinés</i>	61
3.2. Essai en pots.....	62

3.2.1.Effet des traitements simples et combinés sur la quantité de protéines totales.....	62
- <i>Effet du Mg et Mg/Cd sur les racines de blé.....</i>	62
- <i>Effet du Mg et Mg/Cd sur les feuilles de blé.....</i>	63
- <i>Effet du Ca et Ca/Cd sur les racines de blé.....</i>	63
- <i>Effet du Ca et Ca/Cd sur les feuilles de blé.....</i>	64
- <i>Effet du Cu et Cu/Cd sur les racines de blé.....</i>	65
- <i>Effet du Cu et Cu/Cd sur les feuilles de blé.....</i>	65
- <i>Effet du Cadmium (Cd) sur les racines et les feuilles de blé.....</i>	66
3.2.2. Effet des traitements simples et combinés sur les biomarqueurs.....	67
3.2.2.1. Dosages enzymatiques.....	67
A. Effet sur l'activité catalase.....	67
- Effet du Mg et Mg/Cd sur l'activité catalase.....	67
• Des racines.....	67
• Des feuilles.....	67
- Effet du Ca et Ca/Cd sur l'activité catalase.....	68
• Des racines.....	68
• Des feuilles.....	69
- Effet du Cu et Cu/Cd sur l'activité catalase.....	70
• Des racines.....	70
• Des feuilles.....	70
- Effet du Cd sur l'activité catalase.....	71
• Des racines.....	71
• Des feuilles.....	72
B .Effet sur l'activité GST.....	72
- Effet du Mg et Mg/Cd sur l'activité GST.....	72
• Des racines.....	72
• Des feuilles.....	73
- Effet du Ca et Ca/Cd sur la GST.....	74
• Des racines.....	74
• Des feuilles.....	74

• Effet du Cu et Cu/Cd sur la GST.....	75
• Des racines.....	75
• Des feuilles.....	76
- Effet du Cd sur la GST.....	76
• Des racines.....	76
• Des feuilles.....	77
3.2.2.2. Dosage non Enzymatique : Le GSH.....	77
A. Effet du Mg et Mg/Cd sur le GSH.....	77
• Des racines.....	77
• Des feuilles.....	78
B. Effet du Ca et du Ca/Cd sur le GSH.....	79
• Des racines.....	79
• Des feuilles.....	79
C .Effet du Cu et Cu/Cd sur le GSH.....	80
• Des racines.....	80
• Des feuilles.....	81
D. Effet du Cd sur le GSH.....	81
• Des racines.....	81
• Des feuilles.....	82
Chapitre 4 Discussion Générale.....	83
Conclusion.....	92
Hypothèse suggérée.....	93
Perspectives.....	94
Annexes	95
Références bibliographiques.....	124

Introduction

Depuis le début de la révolution industrielle, la pollution de l'environnement, y compris le sol, est accélérée de façon spectaculaire (Yanai *et al.*, 2006). Les rejets industriels non réglementés représentent un apport important en éléments traces dans les milieux (atmosphériques, aquatiques ou terrestre) qui contribuent à la pollution anthropique de la biosphère. L'enrichissement en composés xénobiotiques est, entre autre, favorisé par divers processus de transformation dont la production non ferreuse des métaux (As, Cd, Cu, Zn), la combustion de charbon (Ni, Pb), les pratiques agricoles (As, Cd, Pb) et le transport routier (Pb, Mn)(Grant, 2008 ; Kabata- Pendias, 2011).

Chez les végétaux, si les métaux sont souvent indispensables au déroulement des processus biologiques (Oligoéléments), nombre d'entre eux peuvent s'avérer contaminants pour diverses formes de vie, lorsque leur concentration dépasse un certain seuil. Par exemple, une trop forte concentration de Cu peut le rendre toxique, notamment en inhibant la croissance racinaire (Marschner, 2012) et en altérant la structure de certaines protéines (Yruela, 2009), le cadmium (Cd) quant à lui est un métal lourd relativement rare dans l'écosystème (McBride, 1995) et particulièrement toxique pour l'homme (Moulis *et al.*, 2014).

De nombreuses études ont montré que la présence d'éléments traces métalliques et plus particulièrement le Cd dans le milieu de culture peut se traduire, par l'apparition de symptômes d'intoxication, accompagné d'une inhibition de la croissance pondérale des plantes, d'une réduction de l'activité photosynthétique et d'une diminution de l'absorption des nutriments (Zhou et Qiu, 2005 ; Clemens, 2006 ; Verbruggen *et al.*, 2009 et DalCorso *et al.*, 2013).

L'utilisation d'approches « omiques » a permis également de mettre en évidence ou de confirmer les mécanismes cellulaires et moléculaires perturbés ou exacerbés par les éléments traces métalliques et plus particulièrement le Cd (Herbette *et al.*, 2006 ; Le Lay *et al.*, 2006 ; Sarry *et al.*, 2006 ; Villiers *et al.*, 2011 ; Doustaly *et al.*, 2014 et Ovecka et Tackac, 2014).

Ainsi, les végétaux vont mobiliser des systèmes de défense anti-espèces oxydantes l'un enzymatique et l'autre non-enzymatique impliquant différents composés qui possèdent une affinité pour les radicaux libres et peuvent être considérés comme des "pièges" ou des antioxydants (Soughir, 2009).

Notre travail a été initié afin d'étudier les effets de certains métaux lourds (Cd, Cu) et leurs interactions avec des éléments minéraux (Mg, Ca) à travers le suivi de paramètres physiologiques, enzymatiques et non enzymatiques réalisé sur un modèle biologique : le blé dur Var. *Siméto*.

Chapitre 1

Synthèse Bibliographique

1.1. Pollution par les métaux lourds

Les métaux lourds, ou éléments traces métalliques (ETM), existent naturellement mais en quantités très faibles dans les sols, l'eau et l'air. Certaines activités humaines, comme la combustion du charbon, du pétrole, des déchets et certains procédés industriels en rediffusent en revanche en grande quantité dans l'environnement. Ils sont souvent liés aux particules fines à l'exception du mercure, qui est principalement gazeux. Si une partie des métaux lourds retombe aux alentours de la source d'émissions, certains peuvent voyager sur de longues distances.

Les métaux lourds ne posent pas seulement un problème pour la pollution de l'air : ils sont biopersistants, perturbent les écosystèmes, détériorent les sols, les eaux de surface, les forêts et les cultures et s'accumulent dans la chaîne alimentaire. Certains sont cancérigènes pour l'homme.

Les principaux métaux lourds émis dans l'atmosphère par les activités humaines sont le zinc (Zn), le cuivre (Cu), le nickel (Ni), le plomb (Pb), le chrome (Cr), le sélénium (Se), l'arsenic (As), le mercure (Hg) et le cadmium (Cd). Le mercure, le plomb et le cadmium font l'objet d'une attention particulière, car ils sont très toxiques (effets sur le système nerveux) et ont une durée de vie très longue (Fabrégat, 2010).

1.1.1. Les métaux lourds

A. Définition

Alloway (1995) définit les éléments traces comme tout autre élément du tableau périodique présent naturellement dans l'environnement, étant donné leur faible concentration. Par ailleurs, Sposito (1989) considère que la concentration seuil d'un élément trace est mesurée en deçà de 100 mg kg^{-1} (0,01%). Compte tenu de leurs potentielles implications écotoxicologiques, une connotation péjorative est parfois associée au terme.

Or, certains de ces éléments traces constituent les micronutriments essentiels à plusieurs organismes vivants (végétaux, animaux, microorganismes), parmi lesquels on retrouve le cuivre (Cu), le nickel (Ni) et le zinc (Zn).

Par exemple, le cuivre est utilisé dans les réactions de photosynthèse et lors de la respiration (Hopkins, 2003; Yruela, 2009). Une trop forte concentration de Cu peut cependant le rendre toxique, notamment en inhibant la croissance racinaire (Marschner, 2012) et en altérant la structure de certaines protéines (Yruela, 2009). Les éléments traces comme l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le plomb (Pb) et le mercure (Hg) n'occupent aucune fonction physiologique chez les organismes vivants et sont considérés comme des éléments non essentiels toxiques.

B. Sources

Sources naturelles

On peut identifier certains éléments traces dans les minéraux primaires que l'on retrouve dans la composition des roches ignées. Ces dernières sont les roches formées à la suite du refroidissement et de la cristallisation subséquente du magma (Alloway, 1995). Une fois que ce processus de substitution est accompli, les éléments traces intègrent le cycle géologique des roches (érosion, dépôt, diagenèse, métamorphisme, etc.). On les retrouve donc dans les roches formant le matériel parental, qu'elles soient ignées, sédimentaires ou métamorphiques. Ainsi, l'altération de ce matériel parental représente le principal mécanisme naturel qui permet la libération d'éléments traces dans l'environnement (Kabata-Pendias, 2011).

D'autres mécanismes, notamment le volcanisme, constituent des sources naturelles potentielles. Ce sont les divers processus biogéochimiques et pédogénétiques qui s'opèrent dans les sols qui engendrent la libération des éléments traces (Sposito, 1989). Par conséquent, les concentrations en éléments traces associées aux teneurs de fond peuvent atteindre des concentrations élevées (Brooks *et al.*, 1974; Baker et Brooks, 1989; Robinson *et al.*, 1997 ; Pollard *et al.*, 2002).

Sources anthropiques

Certains écosystèmes atteignent des niveaux de concentrations allant au-delà des teneurs de fond naturelles. Cette anomalie est due aux divers types d'activité anthropique, lesquels sont variables dans le temps en fonction du contexte social et économique. L'accroissement de la population et l'intensification des activités industrielles ont contribué considérablement à l'augmentation de la concentration des éléments traces dans l'environnement.

Les rejets industriels non règlementés représentent un apport important en éléments traces dans les milieux, qu'il soit atmosphérique, aquatique ou terrestre. L'enrichissement en composés xénobiotiques est, entre autres, favorisé par divers processus de transformation dont la production non ferreuse des métaux (As, Cd, Cu, Zn), la combustion de charbon (Ni, Pb), les pratiques agricoles (As, Cd, Pb) et le transport routier (Pb, Mn) (Grant, 2008 ; Kabata-Pendias, 2011).

Les éléments traces sélectionnés pour ce travail sont parmi les polluants métalliques les plus fréquemment rencontrés dans les sols : le Cadmium pour sa phytodisponibilité et sa toxicité et le Cuivre, oligoélément essentiel au développement des végétaux mais qui s'avère toxique à forte dose.

1.1.2. Cas du cadmium

Le cadmium est un métal blanc argenté avec des teintes de bleu appartenant à la famille des métaux de transition. Le cadmium élémentaire a un numéro atomique de 48 et une masse atomique de 112,4 g/mol. Le cadmium se trouve souvent associé dans les roches aux éléments du même groupe, comme le zinc et le mercure. La valence Cd^{2+} est la valence la plus souvent rencontrée dans l'environnement et est vraisemblablement la seule valence du cadmium dans les systèmes aqueux (McLaughlin et Singh, 1999).

Le cadmium n'est pas essentiel au développement des organismes animaux ou végétaux. En revanche, ses propriétés physiques et chimiques, proches de celles du zinc et du calcium, lui permettent de traverser les barrières biologiques et de s'accumuler dans les tissus.

- ***Les végétaux principale voie d'entrée du cadmium dans la chaîne alimentaire***

Les végétaux sont la principale voie d'entrée de la chaîne alimentaire. La pollution, à la fois de l'air et des sols, expose les végétaux à des concentrations croissantes de cadmium (Mensch et Baize, 2004). En effet, entre 1 et 5% des produits cultivés de certaines espèces végétales dépassent la concentration maximale réglementaire en cadmium (Mensch et Baize, 2004).

Le niveau d'accumulation de cadmium varie considérablement entre espèces comestibles. Cette variabilité peut être naturellement expliquée par les conditions de cultures, mais aussi par une variabilité interspécifique, laquelle concerne notamment le niveau d'accumulation dans les différents organes.

1.1.2.1. Toxicité du cadmium

On identifie le cadmium comme un polluant extrêmement toxique (Godt *et al.*, 2006). Quelle que soit son origine, le cadmium présent dans le sol ne se décompose ni par voie chimique, ni par voie biologique. Il est accumulé dans les strates superficielles des sols et peut être entraîné par les eaux de ruissellement pour atteindre les nappes phréatiques profondes. Dans le cas d'une accumulation du cadmium dans les strates superficielles des sols, il peut être absorbé par les plantes, ce qui représente un problème majeur pour la santé humaine. Une exposition au cadmium entraîne un grand nombre d'effets nocifs, les lésions rénales et le cancer figurant parmi les plus graves (Godt *et al.*, 2006).

Aussi, celui ci affecte sévèrement le système respiratoire. Il provoque des troubles respiratoires et des oedèmes pulmonaires ainsi qu'une destruction des muqueuses (Seidal *et al.*, 1993). Une exposition à des faibles concentrations de cadmium pendant une longue période ($20 \mu\text{g m}^{-3}$ pendant 20 ans) peut engendrer de graves problèmes respiratoires (WHO, 2000).

Le cadmium semble interférer avec la voie stéroïdogénique ovarienne. De faibles concentrations de cadmium stimuleraient la biosynthèse ovarienne de progestérone alors que des concentrations élevées la bloqueraient (Henson et Chedrese, 2004). Plusieurs études ont montré une forte relation entre l'intoxication par le cadmium et des dommages osseux. Le cadmium est impliqué dans les occurrences de la maladie d'Itai-Itai qui présente comme symptômes la diminution de la minéralisation des os, des taux élevés d'ostéoporose et de douleurs osseuses (Kazantzis, 1979).

1.1.2.2. Facteurs influençant la biodisponibilité du cadmium dans le sol

La biodisponibilité d'un métal signifie son accessibilité pour les organismes vivants. Plusieurs paramètres physico-chimiques comme la forme du cadmium dans le sol, le pH du sol, le potentiel redox ainsi que la richesse du sol en colloïdes organiques ou minéraux peuvent jouer un rôle important dans la biodisponibilité du Cd dans la solution du sol.

- Formes du cadmium dans le sol

En l'absence de ligands organiques les principales formes du cadmium présentes dans la solution du sol sont Cd^{2+} , $CdSO_4$, $CdCO_3$, $CdCl^+$ et $CdHCO_3^+$ (Sposito, 1989). Cependant, Cd^{2+} peut former des complexes avec les principaux acides organiques carboxyliques (acide citrique, oxalique, malique) susceptibles de se trouver dans les zones superficielles des sols cultivés. Ces associations modifient son comportement aux interfaces et peuvent faciliter, dans certaines conditions son entraînement avec la phase liquide. Dans les sols calcaires, la faible solubilité du carbonate de cadmium ($CdCO_3$) limite fortement la concentration de l'ion libre (Cd^{2+}) en solution du sol.

- Effet du pH

Le pH du sol est l'un des paramètres majeurs influençant la biodisponibilité du cadmium et donc son transfert vers les plantes (Kirkham, 2006). Plusieurs chercheurs ont en effet montré que les faibles valeurs de pH favorisent l'accumulation de Cd dans les tissus végétaux (Waisberg *et al.*, 2004 ; Tsadilas *et al.*, 2005 ; Yanai *et al.*, 2006). Tudoreanu et Phillips (2004) ont même montré l'existence d'une relation linéaire entre le pH du sol et l'absorption du cadmium.

Ceci pourrait être expliqué par le fait qu'à faible pH, les protons H^+ qui sont en concentration élevée dans la solution du sol vont se fixer sur les colloïdes à la place des ions métalliques ce qui augmente la concentration des ions Cd^{2+} libres accessibles pour l'absorption racinaire.

- **Effet de la matière organique**

La biodisponibilité du cadmium dépend non seulement de la forme du cadmium et du pH mais aussi de la richesse du sol en matière organique. Sauvé *et al.* (2003) ont montré que la rétention du Cd par le sol était 30 fois plus élevée dans un sol riche en matière organique que dans un sol minéral. Il est ainsi admis qu'un sol riche en collo ides organiques diminue la biodisponibilité du cadmium. L'enrichissement des solutions de culture avec des acides humiques entraîne une diminution de l'absorption de Cd^{2+} chez plusieurs espèces végétales telles que le maïs (Tyler et Bride, 1982), la betterave à sucre (Greger et Lindberg, 1986) et la tomate (Wolterbeek *et al.*, 1988).

- **Effet des compétitions ou des synergies entre éléments chimiques**

La biodisponibilité du cadmium est conditionnée par son environnement chimique. Des compétitions ou synergies entre éléments ont été mises en évidence dans des milieux synthétiques et en solution hydroponique. Une relation antagoniste entre P et Cd ou Zn a souvent été démontrée (Wallace et Berry, 1989; Thys *et al.*, 1991). Elle s'explique par la formation en solution de phosphates de métaux, espèces non absorbables. Par ailleurs, une augmentation de calcium dans le milieu conduit à une diminution de l'absorption de cadmium, suggérant une compétition entre Ca^{2+} et Cd^{2+} au niveau de la surface racinaire (Jarvis *et al.*, 1976 ; Kim *et al.*, 2003 ; Sarwar *et al.*, 2010).

Un effet compétiteur du Mn^{2+} vis-à-vis du Cd^{2+} a également été démontré en solution nutritive (Jarvis *et al.*, 1976 ; Zornoza *et al.*, 2010). Une compétition entre le cadmium et le zinc est souvent observée (Sadana et Bijay, 1989) ; cette compétition se traduit par une diminution de l'influx de Cd^{2+} en présence de Zn^{2+} (Costa et Morel, 1994a ; Sarwar *et al.*, 2010). Ces observations s'expliquent par des compétitions entre les différents cations pour les sites de complexation de surface au niveau de la racine et vis-à-vis de transporteurs peu spécifiques de cations majeurs ou d'oligoéléments.

D'autres études démontrent cependant un effet de synergie entre le cadmium et des éléments tels que le zinc ou le calcium (Turner, 1973 ; Girling et Peterson, 1981; Larbi *et al.*, 2002 ; Ghnaya *et al.*, 2005). En fait, il semble que les interactions dépendent du niveau de concentration du cadmium dans le milieu (Sharma et Agrawal, 2006).

Il est également 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 Cd^{2+} . Ce processus de complexation semble augmenter la mobilité des ions Cd^{2+} dans le sol ainsi que leur biodisponibilité (Lopez-Chuken et Young, 2005 ; Ghnaya *et al.*, 2007). De ce fait, l'enrichissement du sol en NaCl stimule le prélèvement de Cd par les plantes (Xu *et al.*, 2010). En présence de NaCl, le cadmium est absorbé sous forme ionique (Cd^{2+}) ou sous forme d'un complexe (CdCl_n^{2-n}) (Lopez-Chuken et Young, 2005).

Ces résultats conduisent à remettre en cause les seuils de toxicité définis à partir d'études monoélémentaires puisque le statut en éléments majeurs peut influencer sur l'accumulation du métal et l'expression de la phytotoxicité. Ils prouvent la nécessité de prendre en compte les cations compétiteurs pour estimer la biodisponibilité et donc le flux de transfert d'un élément.

- **La température du sol**

La température du sol dépend en premier lieu de la météorologie, et donc du climat, mais elle est également liée à l'activité biologique et influence rétroactivement la formation de complexes avec des ligands inorganiques en modifiant l'activité de l'élément en solution (Deneux-Mustin *et al.*, 2003). Haghiri (1974) montre que l'augmentation de la température favorise le prélèvement du cadmium par les plantes.

La température a un impact direct sur la mobilité des métaux en déplaçant les équilibres des réactions de dissolution-précipitation et co-précipitation, et un impact indirect, en modifiant la teneur en eau du sol et son pH.

1.1.3. Cadmium et plantes

A. Phytotoxicité du cadmium

Chez les plantes, le cadmium n'a aucune fonction biologique connue (Pokorny *et al.*, 2004), et il est toxique à de faibles concentrations (De la Rosa *et al.*, 2004). Les symptômes que présente une plante cultivée en présence de cadmium sont l'inhibition de la croissance, la diminution de sa biomasse, la chlorose, la nécrose, la perturbation des flux d'eau, la déficience en phosphore et en azote, l'accélération de la sénescence l'apparition du retard dans le développement des jeunes pousses et des perturbations de la photosynthèse (Cosio *et al.*, 2005; Clemens, 2006).

B. Effet du cadmium sur la croissance

L'effet toxique du cadmium sur la croissance de la plante se manifeste par une réduction de la croissance des parties aériennes et des racines (Ghnaya *et al.*, 2005 ;Zorrig *et al.*, 2010) affectant ainsi dramatiquement la production de la biomasse. Ces effets peuvent être liés, entre autres, à la perturbation de l'équilibre de certaines hormones de croissance, notamment l'auxine (Hasenstein *et al.*, 1988), à la perturbation de l'homéostasie des éléments minéraux essentiels pour la croissance des plantes (Das *et al.*, 1997), à une action délétère du cadmium sur la composition des parois cellulaires (Chaoui et El Ferjani, 2005), ainsi qu'à des perturbations de la machinerie photosynthétique, notamment la structure des chloroplastes et la biosynthèse de la chlorophylle (Mobin et Khan, 2007 ; Ebbs et Uchil, 2008).

Il est toutefois important de noter que le cadmium n'affecte pas la croissance de toutes les plantes avec la même sévérité. En effet, sur des sites très contaminés en métaux lourds, et en particulier en cadmium, certaines espèces végétales telles que *Arabidopsis halleri* et *Thlaspi caerulescens* sont capables de croître, se développer, et se reproduire (Dahmani-Müller *et al.*, 2001 ; Wojcik *et al.*, 2005). Ces espèces végétales hypertolérantes sont aussi hyperaccumulatrices de cadmium. Bien que l'hyperaccumulation nécessite la tolérance, une relation simple entre la tolérance et l'hyperaccumulation n'apparaît pas évidente.

À ce jour, nos connaissances sont encore limitées sur les mécanismes physiologiques et moléculaires permettant à ces plantes de maintenir leurs capacités de croissance sur des milieux fortement pollués par le cadmium, et d'éviter les effets toxiques du cadmium malgré les grandes quantités accumulées.

À très faible concentration de Cd dans le milieu la croissance de plusieurs plantes peut être stimulée (Arduini *et al.*, 2004 ; Tang *et al.*, 2009). Ces effets sont peu discutés dans la littérature. Une explication de ce mécanisme a toutefois été suggérée: selon Kennedy et Gonsalves (1987), une faible concentration de Cd hyperpolarise la membrane cytoplasmique à la surface racinaire augmentant ainsi le potentiel transmembranaire qui présente une source d'énergie pour l'absorption des cations essentiels.

C. Effet du cadmium sur la photosynthèse

Le cadmium affecte sérieusement l'appareil photosynthétique (Clemens, 2006). La diminution de la capacité photosynthétique par le cadmium peut être due essentiellement à une désorganisation structurale des chloroplastes (Ouzounidou *et al.*, 1997; Djebali *et al.*, 2005).

Baryla *et al.*, (2001) rapportent que la chlorose observée dans les feuilles de *Brassica napus* est due à une diminution significative de la densité des chloroplastes et à une augmentation de la taille des cellules mésophylliennes et suggèrent que Cd²⁺ affecte aussi la genèse des organites cellulaires, essentiellement les chloroplastes.

Le cadmium pourrait aussi avoir une action directe ou indirecte sur la teneur en chlorophylles (Ghnaya *et al.*, 2005 ; Mobin et Khan, 2007 ; Singh *et al.*, 2010) par l'intermédiaire de perturbations métaboliques (Vassilev *et al.*, 1997) ou d'une inhibition des enzymes de biosynthèse de la chlorophylle (Stobart *et al.*, 1985 ; Padmaja *et al.*, 1990). La diminution de l'activité photosynthétique en présence de cadmium pourrait être aussi due à une diminution de la teneur des parties aériennes en autres pigments comme le β -carotène ou les xanthophylles (Larbi *et al.*, 2002).

On pense que le cadmium agit également sur le processus de transport des électrons lors de la photosynthèse. Le cadmium affecte les composants des photosystèmes II (PSII) en altérant leurs structures et/ou leurs activités (Van Assche et Clijsters, 1985 ; Sigfridsson *et al.*, 2004) et ce à cause des changements irréversibles de leurs conformations suite à la formation des liaisons thiols avec le cadmium (Dafré *et al.*, 1996). Alcántara *et al.*, (1994) suggèrent quant à eux que l'inhibition de la Fe(III) réductase par le Cd provoque une déficience en Fe(II), ce qui affecte sérieusement la photosynthèse.

La fermeture des stomates dont on a vu qu'elle pouvait être causée par le cadmium pourrait être une autre cause de la limitation de la photosynthèse comme conséquence de la restriction de la diffusion du CO₂ dans les feuilles (Polle et Schützendübel 2003, Fediuc *et al.*, 2005).

1.1.4. Induction d'un stress oxydant par le cadmium

Plusieurs indications montrent que le cadmium peut induire un stress oxydant. En effet, en présence de cadmium, les plantes produisent des radicaux libres qui sont des formes très réactives de l'oxygène (ROS : Reactive Oxygen Species), capables d'endommager les structures cellulaires (Razinger *et al.*, 2008; Szöllösi *et al.*, 2009 ; Ahmad *et al.*, 2010 ; Martínez Domínguez *et al.*, 2010). Les plus connues de ces formes réactives sont l'ion superoxyde (O⁻²), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le radical hydroxyl (OH) et l'oxygène singulet (1O₂) (Asada, 1999 ; Dat *et al.*, 2000).

A. Définition d'un stress oxydant

La terminologie de "stress oxydant" est généralement utilisée pour toute agression environnementale ayant pour conséquence une production accrue d'oxydants, molécules toxiques dérivées de l'oxygène. La particularité des végétaux réside dans le fait qu'ils sont des producteurs de l'oxygène, molécule à la fois vitale et nocive.

La présence de cette molécule entretient de surcroît toute une chaîne de réactions radicalaires ayant pour conséquence la génération de molécules oxydantes couramment appelées "espèces réactives de l'oxygène: Reactive oxygen species (ROS)". Les radicaux libres sont des espèces chimiques neutres ou chargées présentant dans leur orbite électronique externe un électron non apparié dit célibataire.

Le radical libre est instable et très réactif et pour devenir stable il doit appairer son électron ou bien céder le sien à une autre molécule. Chacune de ces réactions aboutit à la formation de nouveaux radicaux libres. Dans les cellules végétales, les chloroplastes, les mitochondries et les peroxysomes sont les principales sources génératrices des ROS (Hernandez *et al.*, 1995; Lamb et Dixon, 1997).

En général, la réduction partielle de l'oxygène par les électrons circulant à travers la chaîne des transporteurs d'électrons donne naissance à l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) (Haliwell et Gutteridge, 1986). L'anion superoxyde ainsi formé se trouve rapidement transformé en H_2O_2 (Figure 1) par la superoxyde dismutase (SOD) qui de ce fait joue un rôle important dans la lutte contre le stress oxydant dans la mesure où H_2O_2 est moins réactif que $O_2^{\cdot-}$.

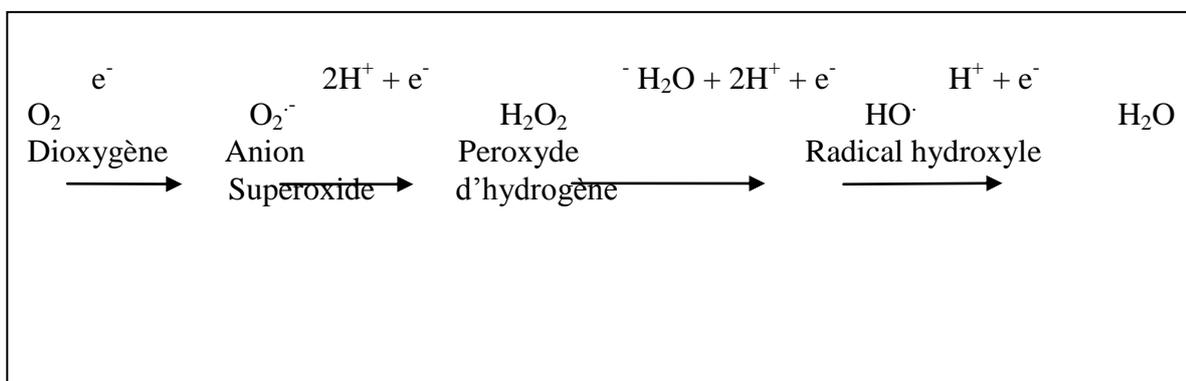


Figure 1 : Réduction monovalente de l'oxygène (Soughir, 2009).

Le peroxyde d'hydrogène est une espèce stable, non radicalaire, mais toxique en raison de son pouvoir oxydant. Dans l'organisme, H_2O_2 peut diffuser à travers les membranes plasmique, mitochondriale, chloroplastique ou peroxysomale favorisant ainsi des perturbations à distance (Schützendübel *et al.*, 2001, Romero-Puertas *et al.*, 2004). Le peroxyde d'hydrogène généré peut suivre la réaction de Haber-Weiss (voir Annexe), dans laquelle le fer [Fe(II)] est un donneur d'électrons pour former le radical hydroxyle qui est très nocif.

Au niveau mitochondrial, le mécanisme principal de la production de l'anion superoxyde fait appel à la cytochrome oxydase et consiste en une réduction tétravalente directe de l' O_2 en H_2O . Un autre mécanisme minoritaire de la chaîne respiratoire consiste en l'oxydation spontanée de l'ubiquinone (Uq) par O_2 et la production de l'anion superoxyde (McCord, 1985).

Les ROS ont tendance, par leurs propriétés oxydantes à arracher des électrons à d'autres molécules comme les lipides membranaires, les protéines ou l'ADN des chromosomes aboutissant à la destruction des constituants cellulaires essentiels. Cependant, plusieurs auteurs ont montré que ces ROS jouent un rôle important dans le système de défense contre les pathogènes (Doke, 1997; Bolwell *et al.*, 2002) et permettent la lignification et le déclenchement d'autres processus comme la mort cellulaire programmée (Teichmann, 2001).

Elles jouent le rôle d'une molécule signal et alertent la cellule de la présence du stress environnant (Rentel et Knight, 2004; Maksymiec, 2007). De ce fait, il est nécessaire pour la cellule de contrôler la quantité des ROS et non de l'éliminer complètement. Le contrôle de ces espèces est réalisé par le système antioxydant.

B. Système antioxydant

Le stress oxydant, conséquence naturelle du métabolisme de l'oxygène, est normalement contrôlé par des systèmes endogènes de défense antioxydante. Les antioxydants cellulaires peuvent être enzymatiques ou non-enzymatiques (Cho et Seo, 2005). Généralement, l'augmentation des activités des enzymes impliquées dans les réactions de défense semble être liée à l'espèce ou à la variété végétale utilisée, aux conditions physiologiques de la plante utilisée, ou encore au type de stress oxydant appliqué.

Les plantes soumises à un stress oxydant font appel à des systèmes de défense enzymatiques très efficaces, tels que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), l'ascorbate peroxydase (APOX), la glutathion réductase (GR), les peroxydases (POD) etc. Ces systèmes de défense enzymatiques permettent de maintenir les formes actives de l'oxygène à des faibles concentrations. Ils sont affectés en présence de cadmium. Le cadmium inhibe ou stimule les activités des enzymes de défense. Ces modifications sont différentes selon l'espèce étudiée, l'organe, l'âge de la plante et la concentration du cadmium utilisée (Metwally *et al.*, 2003, Milone *et al.*, 2003; Hsu et Kao, 2004; Cho et Seo, 2005 ; Singh *et al.*, 2010 ; Martínez Domínguez *et al.*, 2010).

1.1.6. Réponses des plantes au cadmium

Les plantes ont mis en œuvre des mécanismes « spécifiques » pour diminuer la toxicité des métaux. Ces mécanismes incluent l'inactivation des métaux par chélation et par leur exclusion des compartiments cellulaires dans lesquels ils sont toxiques. Ceci suppose cependant que les métaux sont séquestrés dans des organites spécifiques comme les vacuoles ou dans certaines structures telles que les trichomes (Clemens, 2006).

1.1.6.1. La chélation et la séquestration du cadmium

A. Les chélateurs spécifiques

- **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 $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$. Les phytochélatines ont été découvertes pour la première fois chez la levure *Schizosaccharomyces pombe* (Kondo *et al.*, 1984) puis chez les plantes (Grill *et al.*, 1985) et les algues (Hanikenne *et al.*, 2003). Ces peptides sont synthétisés en réponse à la présence d'ions métalliques libres dans le cytoplasme. Ils sont synthétisés à partir du glutathion par la phytochélatine synthase (PS) (Zhu *et al.*, 1999).

Le cadmium forme avec les phytochélatines des complexes de faible masse moléculaire (Low Molecular Weight (LMW)). Le complexe PC-Cd (LMW) n'affecte pas le métabolisme au niveau du cytoplasme. Il est acheminé vers la vacuole. Une fois dans la vacuole, les complexes PC-Cd (LMWs) s'agrègent les uns aux autres par des ponts sulfures pour former des complexes de masse moléculaire élevée (High Molecular Weight (HMW)) (Clemens, 2006 ; DalCorso *et al.*, 2008).

Ce cycle se termine par la dissociation de ses complexes, à cause du pH vacuolaire, provoquant la libération des ions Cd^{2+} qui seront pris en charge par les acides organiques présents, tels que le malate, le citrate ou encore l'oxalate. Les PCs sont recyclées et réexportées dans le cytoplasme pour capter d'autres ions et les réacheminer dans la vacuole (Sanità di Toppi et Gabbrielli, 1999).

Des études faites sur trois espèces différentes (*Arabidopsis thaliana*, *Caenorhabditis elegans* et *S. pombe*) ont démontré une grave hypersensibilité au Cd^{2+} suite à une inactivation des gènes de synthèse des phytochélatines (Ha *et al.*, 1999 ; Clemens *et al.*, 1999 ; Vatamaniuk *et al.*, 2001).

D'une manière plus générale, l'exposition au Cd induit une remarquable augmentation de la quantité de composés contenant des groupements thiols, avec une diminution simultanée de l'activité de l'Adénosine Triphosphate (ATP)-sulfurylase impliquée dans l'assimilation du sulfate (Astolfi *et al.*, 2004) .

Le cadmium augmente la transcription de la g-glutamylcystéine synthase (g-GCS) et active la phytochélatine synthase (PS), ce qui induit la production des PCs et l'épuisement du GSH. La g- glutamylcystéine synthase peut être également inhibée par rétrocontrôle négatif exercé par le GSH (Zhu *et al.*, 1999).

- **Les métallothionéines**

Les métallothionéines (MTs), petites protéines riches en cystéines, jouent également un rôle important de désintoxication du cadmium dans les cellules de mammifères (Hamer, 1986). Les métallothionéines sont codées par des gènes qui sont classés en deux groupes (MT1 et MT2). Chez certaines plantes supérieures, incluant *A. thaliana*, on a remarqué l'existence de deux autres types de métallothionéines, MT3 et MT4 en plus des classes 1 et 2 de métallothionéines (Goldsbrough, 2000).

Les métallothionéines des plantes peuvent conférer une tolérance aux métaux une fois exprimée chez la levure, et quelques-unes d'entre elles sont régulées positivement dans des conditions d'excès métallique (Rauser, 1999 ; Cobbett *et al.*, 2002). Néanmoins, une participation des métallothionéines à la désintoxication du cadmium chez les plantes n'est pas certaine (Cobbett *et al.*, 2002). Alternativement, les métallothionéines peuvent fonctionner comme antioxydants (Dietz *et al.*, 1999) et probablement intervenir dans la réparation de la membrane plasmique (Salt *et al.*, 1998).

B. Les autres chélateurs

Outre les métallothionéines et les phytochélatines d'autres composés semblent être impliqués dans la complexation des ions métalliques au niveau cellulaire: les acides carboxyliques, les acides organiques comme le citrate, l'oxalate ou le malate et les acides aminés comme l'histidine et la proline. Ils peuvent avoir un rôle important dans la tolérance des plantes aux métaux et dans la détoxification de ces éléments (Rauser, 1999; Clemens, 2001; Siripornadulsil *et al.*, 2002; Bäckor *et al.*, 2004 ; Sharma et Dietz, 2006). À titre d'exemple, des complexes Cd-citrate ont été identifiés dans la sève xylémique collectée chez la tomate traitée par le cadmium (Senden *et al.*, 1995).

Le système racinaire des plantes peut aussi excréter ou exsuder dans le sol des molécules organiques diverses tels que les phytosidérophores en quantité assez importante pour mobiliser certains ions nutritifs. Les phytosidérophores peuvent jouer un rôle important pour la nutrition minérale des végétaux, en participant à la mobilisation de micronutriments tels que Fe, Zn et Cu. Une fois introduit dans la plante, le chélat formé avec le phytosidérophore est dissocié et le métal libéré. Ce même processus peut s'appliquer probablement au cadmium, vu sa grande similitude avec le zinc (Schenker *et al.*, 2000).

D'autres petites molécules comme la nicotianamine (dérivé de la méthionine et résultant de l'oligomérisation de trois S-adénosyl méthionines) peuvent fixer les métaux de transition tel que le cuivre ou bien le fer (Curie *et al.*, 2009), mais il n'existe pas à ce jour de travaux qui montrent clairement l'implication de ce type de molécule dans la chélation du cadmium.

1.1.6.2. La séquestration avec les antiports $\text{Cd}^{2+}/\text{H}^+$

Outre la séquestration du cadmium par l'intermédiaire de chélateurs spécifiques, un deuxième mécanisme de séquestration vacuolaire de cadmium reposant sur l'activité de transporteurs de Cd^{2+} a été à plusieurs reprises discuté. Ainsi, un antiport $\text{Cd}^{2+}/\text{H}^+$ présent sur la membrane tonoplastique a été décrit dans les racines d'avoine (Salt *et al.*, 1993). Cet antiport présente une faible affinité pour le cadmium mais qui est similaire à celle de l'antiport $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$. Cette similitude soulève la question de la nature de l'antiport $\text{Cd}^{2+}/\text{H}^+$: s'agit il d'un nouvel antiport ou plutôt d'une substitution du Ca par Cd au niveau de l'antiport $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ (Krämer *et al.*, 2007).

Une deuxième question peut être posée concernant le degré d'implication de ces antiports dans la séquestration du cadmium, sachant que la majeure partie du cadmium forme des complexes avec les PCs (Vatamaniuk *et al.*, 2000). Récemment, une étude a montré d'une manière plus claire l'implication d'une pompe ATPase dans la séquestration vacuolaire du cadmium. En effet, Morel *et al.*, (2009) ont montré que *AtHMA3* joue vraisemblablement un rôle important dans la séquestration vacuolaire du cadmium, une fonction originale pour une ATPase P1B⁻² chez un organisme eucaryote multicellulaire.

1.1.6.3. Autres stratégies de défense

D'autres stratégies pourraient être impliquées dans la tolérance des plantes aux métaux lourds en général comme l'évitement ou la réduction de l'absorption (Meharg et Macnair 1992), l'efflux actif à partir du cytoplasme (Kim *et al.*, 2007) et la fixation des métaux dans le compartiment apoplasmique (Salt *et al.*, 2000; Hall, 2002). Pour le cadmium, l'accumulation de ce métal dans les feuilles âgées pourrait également être considérée comme une stratégie de tolérance au cadmium. En général, la teneur en cadmium dans les feuilles augmente avec l'âge des feuilles. Par exemple, chez *Armeria maritima*, la teneur en cadmium des feuilles âgées est 3 à 8 fois supérieure à celle des jeunes feuilles (Dahmani-Müller *et al.*, 2000).

L'accumulation du cadmium dans les trichomes pourrait également être considérée comme une stratégie de tolérance au cadmium (Salt *et al.*, 1995). Enfin, le cadmium pourrait induire une biosynthèse d'éthylène dans les racines et les feuilles. L'éthylène serait alors un messager stimulant la lignification limitant de ce fait les flux de cadmium dans les systèmes vasculaires et accélérant la réponse antioxydante par induction de l'activité ascorbate peroxydase (APX), ainsi que par la synthèse des chélateurs (Sanità di Toppi et Gabbrielli, 1999).

1.1.7. Prélèvement, accumulation et transport du cadmium

A. Prélèvement du cadmium

Selon leurs aptitudes à tolérer, à absorber ou à accumuler le cadmium dans les tissus, les plantes peuvent être caractérisées d'indicatrices, d'exclusives ou d'accumulatrices voire d'hyper accumulatrices. Chez les plantes indicatrices, le prélèvement et le transport du cadmium dépendent linéairement de la concentration dans le sol et la concentration du cadmium dans la plante reflète celle du sol.

Chez les plantes exclusives, la concentration du cadmium dans la plante est nettement inférieure à celle que l'on peut observer dans le sol. À l'inverse, chez les plantes accumulatrices ou hyper accumulatrices la concentration du cadmium dans la plante est nettement supérieure à celle que l'on peut observer dans le sol (Bourrelier et Berthelin, 1998).

-Prélèvement via la voie atmosphérique

Peu d'auteurs ont étudié les parts respectives du prélèvement racinaire et du prélèvement foliaire du cadmium dans le contenu en cadmium accumulé par les plantes. La plupart d'entre eux se sont contentés de constater des différences en fonction de la proximité d'une source de contamination (route, cheminée d'industries, ville, etc.).

Une étude a tenté d'estimer cette proportion en utilisant un traçage isotopique par du ^{109}Cd (Hovmand *et al.*, 1983): dans un contexte de sols agricoles non contaminés soumis à des retombées atmosphériques diffuses, 20% (pour le grain de blé) à 60 % (pour le chou) du cadmium total du végétal non lavé provenait des retombées aériennes. Cependant, la contribution des retombées aériennes ne deviendrait prépondérante que lorsque les dépôts aériens seraient de l'ordre de 10 g/ha/an. Pour le cadmium, les transferts via la voie atmosphérique peuvent donc être négligés dans les contextes agricoles éloignés de sources de contamination.

- Prélèvement racinaire du cadmium

Les espèces de cadmium prélevées par les racines

On estime que, pour la majorité des métaux, le prélèvement se fait quand ces éléments sont sous forme de cations libres (Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) (Hart *et al.*, 1998a ; Hart *et al.*, 1998b). Dans des cas particuliers, d'autres formes interviennent. Comme cela a été brièvement mentionné précédemment, des complexes inorganiques de cadmium (CdCl^+ et CdCl_2) observés dans les sols salés ou irrigués avec des eaux chlorées pourraient être absorbés (Weggler-Beaton *et al.*, 2000; Weggler *et al.*, 2004).

A concentration identique en Cd^{2+} dans le milieu, une augmentation du prélèvement de cadmium est observée en présence de chlorures, suggérant soit que le complexe est directement absorbé, soit qu'il participe à la diffusion vers la racine (Smolders et McLaughlin, 1996a ; Smolders et McLaughlin, 1996b).

Les sulfates pourraient jouer le même rôle via des complexes CdSO_4 (McLaughlin *et al.*, 1998a ; McLaughlin *et al.*, 1998b), mais ces résultats n'ont pas été confirmés par d'autres études (Bingham *et al.*, 1986). Il est également possible que des complexes Cd-citrate soient directement absorbés ou participent à l'absorption (Berkelaar et Hale, 2003).

Les mécanismes de prélèvement racinaire

Puisque le Cd^{2+} est un ion métallique non essentiel, on considère qu'il n'existe pas de mécanisme spécifique d'absorption de cet élément. Le cadmium étant un métal facilement absorbé par les racines des plantes (Wagner, 1993) il est probable qu'il puisse entrer dans les cellules de plantes par l'intermédiaire de plusieurs systèmes de prélèvement des cations essentiels (Clemens, 2006). Il a cependant été rapporté que le cadmium peut être absorbé par simple diffusion et que les différentes voies d'absorption du cadmium peuvent varier selon l'espèce végétale considérée.

Chez le riz, le maïs et le soja, l'absorption est réalisée principalement par des transporteurs membranaires (Cataldo *et al.*, 1988) alors que chez l'orge, l'absorption du cadmium se fait principalement par une simple diffusion (Cutler et Rains, 1974). Chez d'autres espèces, les deux voies peuvent coexister comme chez le blé dur où l'absorption du cadmium est effectuée par simple diffusion et par des transporteurs (Hart *et al.*, 1998b).

B. Accumulation du cadmium

- **Variabilité interspécifique d'accumulation de cadmium**

Il a été clairement démontré que la capacité d'accumulation de cadmium était dépendante de la famille végétale (Kuboi *et al.*, 1986) et de l'espèce (Coullery, 1997).

Parmi les plantes consommables, aucune ne peut être classée dans la catégorie des plantes hyper accumulatrices de cadmium. Les plantes cultivées les moins accumulatrices de cadmium sont les Légumineuses. Les Poacées, les Liliacées, les Cucurbitacées et Apiacées sont moyennement accumulatrices.

Les Chénopodiacées (épinard, betterave), les Brassicacées (chou, navet, radis) et les Astéracées (laitue) sont les plus accumulatrices (Kuboi *et al.*, 1986). Cette hiérarchie est différente si on s'intéresse à d'autres métaux: à titre d'exemple, pour le nickel, une Légumineuse telle que le haricot est fortement plus accumulatrice que la carotte (Ombellifère) ou la laitue (Astéracées) (Coullery, 1997).

- **Variabilité intraspécifique d'accumulation de cadmium**

Des différences d'accumulation ont été observées entre différentes variétés d'une même espèce végétale. Par exemple, la concentration en cadmium varie d'un facteur 2 au sein de l'espèce "pomme de terre" (McLaughlin *et al.*, 1994), d'un facteur supérieur à 2 chez la laitue (Costa et Morel, 1994a; Florijn *et al.*, 1991), d'un facteur compris entre 2 et 6 suivant les années chez le blé tendre (Vinkel, 2001), d'un facteur 3 chez le blé dur, d'un facteur 4 dans le grain de tournesol et d'un facteur 10 dans la graine de lin (Li *et al.*, 1997) ou 11 dans des plantules de maïs (Florijn et Vanbeusichem, 1993).

Il apparaît cependant que les différences inter variétales varient en fonction des conditions de culture.

Chez la laitue, il a été montré que les différences inter variétales étaient importantes quand les plantes sont cultivées sur des sols très faiblement contaminés alors que ces différences s'estompent quand les plantes sont cultivées sur des sols fortement contaminés par le cadmium (Florijn *et al.*, 1991; Costa et Morel, 1994a).

Chez le blé les différences variétales d'accumulation de cadmium sont fonction du sol et du niveau d'exposition (Vinkel, 2001). Ces différences peuvent ainsi varier d'un site à un autre ou d'une année à une autre (Vinkel, 2001).

- **Variabilité d'accumulation de cadmium entre les organes**

Comme cela a été mentionné, l'accumulation de cadmium diffère considérablement selon les organes et les tissus d'une même plante, par exemple entre les racines et les parties aériennes, et la distribution des teneurs en cadmium est elle-même fortement variable à la fois entre espèces et entre variétés au sein d'une même espèce. Aucun lien évident ne peut être établi entre la facilité à accumuler le cadmium et la répartition du cadmium entre organes (Wagner, 1993 ; Clemens, 2006).

À l'échelle de la plante entière, il y a généralement moins de Cd dans les feuilles que dans les racines, et encore moins dans les fruits et dans les graines (Wagner, 1993). Jarvis *et al.*, (1976) ont remarqué que chez 20 espèces végétales, la quantité de cadmium retenu par les racines dépasse la moitié de la quantité totale absorbée par la plante. Chez *Azolla filiculoides*, les niveaux d'accumulation du Cd²⁺ sont au moins deux fois plus élevés dans les racines que dans les parties aériennes (Sela *et al.*, 1989).

Le même résultat a été observé chez le riz (Ros *et al.*, 1992), le petit pois (Chugh *et al.*, 1992) et la laitue (Costa et Morel, 1994b).

Cependant, chez certaines espèces, le cadmium peut s'accumuler fortement en dehors des racines. C'est par exemple le cas du tabac qui accumule dans ses feuilles plus de 80% du cadmium prélevé par les racines (Elmayan et Tepfer, 1994). C'est aussi le cas des espèces sauvages dites hyper accumulatrices: *A. halleri* et *T. caerulescens* (Lombi *et al.*, 2000 ; Dahmani- Müller *et al.*, 2001 ; Wojcik *et al.*, 2005).

- **Accumulation du cadmium à l'échelle cellulaire**

À l'échelle cellulaire, la localisation du cadmium est encore mal connue. Deux compartiments cellulaires semblent jouer un rôle important dans le stockage et la localisation du cadmium: les parois cellulaires et les vacuoles. Selon les plantes et les techniques utilisées, les auteurs ont mis en évidence que le cadmium est: soit associé à des granules dans les vacuoles, le cytoplasme, les plastes ou le noyau (Vazquez *et al.*, 1992), soit lié aux parois cellulaires (Lozano-Rodriguez *et al.*, 1997; Ramos *et al.*, 2002), soit présent dans différents types de structures simultanément (Dahmani- Müller, 2000).

Ramos *et al.*, (2002) ont quantifié cette répartition dans les feuilles de laitue: 63-64% du cadmium est lié aux parois cellulaires alors que 13 à 25 % est localisé dans le protoplasme et 6 à 16 % dans les chloroplastes. En fait, ces différences semblent être liées au niveau de contamination considéré. Des microanalyses aux rayons X des racines de *Zea mays* et d'*Agrotis gigantea*, ont montré que Cd^{2+} s'accumule sous forme de granules au niveau du cytoplasme et de la vacuole des cellules matures différenciées et dans le noyau des cellules indifférenciées (Rauser et Ackerly, 1987).

Utilisant la technique de fractionnement cellulaire, Weigel et Jager (1980) ont montré que chez le haricot, le Cd^{2+} se localise au niveau du cytoplasme aussi bien dans les cellules foliaires que dans les cellules racinaires alors qu'une très faible partie du cadmium est retenue par les parois des cellules des deux types d'organes. Cependant, en utilisant la technique d'analyse aux rayons X, Vazquez *et al.*, (1992) ont observé que chez la même espèce, le Cd^{2+} s'accumulait principalement dans la vacuole et le noyau, et en faible quantité dans le cytoplasme et les plastes.

C. Transport du cadmium à longue distance

Le transport du cadmium des racines vers les feuilles se fait *via* la sève brute (xylème). Suite à l'absorption du cadmium par les racines, trois processus contrôlent le transport du cadmium des racines vers le xylème: la séquestration des métaux à l'intérieur des cellules racinaires, le transport symplasmique dans la stèle et la décharge du cadmium dans le xylème (Clemens *et al.*, 2002).

Le transport du cadmium vers les feuilles semble être étroitement lié au processus de la transpiration (Hardiman et Jacoby, 1984). En effet, il a été démontré que la fermeture totale des stomates s'accompagne par une diminution importante de l'accumulation du cadmium au niveau des feuilles, suggérant l'implication de l'appel foliaire dans l'accumulation de cadmium dans les feuilles (Salt *et al.*, 1995). Cependant, la diminution de la translocation du cadmium des racines vers les feuilles n'affecte pas l'absorption du cadmium par les racines, révélant ainsi l'indépendance de ces deux processus (Salt *et al.*, 1995).

Chez plusieurs espèces, le complexe phytochélatine-cadmium (PC-Cd) est trouvé dans le xylème mais aussi dans le phloème, indiquant que les phytochélatines jouent un rôle important dans le transport à longue distance du cadmium, des racines vers les parties aériennes et inversement (Gong *et al.*, 2003 ; Chen *et al.*, 2007 ; Mendoza- Cózatl *et al.*, 2008). Cependant, les acteurs moléculaires impliqués dans le chargement des complexes PCs-Cd dans le xylème ou leur déchargement dans le phloème demeurent inconnus.

- **Systemes de transport**

On sait depuis longtemps qu'un excès de cations essentiels tels que le Zn^{2+} ou bien le Ca^{2+} a un effet protecteur contre la toxicité du Cd^{2+} (He *et al.*, 2005; Boulila Zoghلامي *et al.*, 2006). Ceci a été interprété par la concurrence entre ces différents cations sur les sites d'absorption.

Puisque le Cd^{2+} est un ion métallique non essentiel, on suppose qu'il n'existe pas de mécanisme spécifique d'absorption pour cet élément et que le cadmium peut entrer dans les cellules végétales par l'intermédiaire de systèmes de prélèvement des cations essentiels. Cependant, chez l'espèce hyper accumulatrice de cadmium, *T. caerulescens* il pourrait exister des systèmes spécifiques de prélèvement du Cd^{2+} (Lombi *et al.*, 2001).

Au milieu des années 90, on a commencé à identifier des transporteurs de cations chez les plantes, notamment des transporteurs de Fe^{2+} et de Zn^{2+} (Fox et Guerinot, 1998 ; Mäser *et al.*, 2001). Il est devenu possible de savoir si ces transporteurs contribuent également à l'absorption de Cd^{2+} . À ce jour, différentes familles de transporteurs capables de transporter le cadmium ont été identifiées chez les plantes.

Des canaux, notamment les canaux calciques pourrait aussi être impliqués dans le transport du cadmium (Hinkle *et al.*, 1992 ; Perfus- Barbeoch *et al.*, 2002).

- **Les transporteurs pouvant transporter le cadmium**

Il existe plusieurs transporteurs du cadmium chez les plantes ceux qui ont été identifiés sont résumés dans le tableau1.

Tableau 1 : Transporteurs membranaires de Cd identifiés chez les plantes (Muschitz, 2009 ; Zorrig, 2011).

Type de transporteur	Exemples
Antiport cation/H ⁺ a	Chez <i>Arabidopsis thaliana</i> , des transporteurs Ca ²⁺ /H ⁺ pourraient également transporter le Cd ²⁺ et le Mn ²⁺ (Fox et Guerinot, 1998 ; Hirschi <i>et al.</i> , 2000)
CPx-ATPases b	Capture des (Zn ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺) et séquestration vacuolaire (Gravot <i>et al.</i> , 2004 ; Verret <i>et al.</i> , 2004 ; Williams et Mills, 2005) et translocation vers le xylème (Colangelo et Guerinot, 2006)
Nramp c	<i>LeNramp1</i> et <i>LeNramp3</i> - régulation de l'homéostasie du fer chez la tomate (Williams <i>et al.</i> , 2000 ; Bereczky <i>et al.</i> , 2003 ; Clemens, 2006)
CDF d	Transport vacuolaire du zinc et du cadmium (Desbrosses-Fonrouge <i>et al.</i> , 2005 ; Colangelo et Guerinot, 2006)
ZIP e	Capture cytoplasmique des ETM (Guerinot, 2000), principalement exprimées dans les cellules racinaires, comme <i>LeIRT1</i> et <i>LeIRT2</i> chez la tomate (Eckhardt <i>et al.</i> , 2001)
ABC f	Transport vacuolaire du Cd ²⁺ et Zn ²⁺ (Theodoulou, 2000 ; Moons, 2003)
LCT1 g	Capture des ions Ca ²⁺ et Cd ²⁺ chez le blé (Clemens <i>et al.</i> , 1998 ; Antosiewicz et Henning, 2004)
Canaux calciques h	Absorption de Cd ²⁺ par l'intermédiaire de canaux calciques chez <i>Vicia faba</i> (Perfus-Barbeoch <i>et al.</i> , 2002) .

(a) : Protéines impliquées dans la régulation des concentrations cytosoliques en Ca²⁺ et Na⁺ et leur transport dans la vacuole (Hirschi, 2001 ; Gaxiola *et al.*, 2002).

(b) : ATPases possédant un motif intermembranaire Cystéine – Proline – x (x = cystéine, histidine ou sérine)

(c) : Natural resistance-associated macrophage proteins (famille de protéines impliquées dans le transport des cations divalents découvertes initialement chez les bactéries, les levures et les animaux.

(d) : Cation Diffusion Facilitator.

(e) : Zinc-regulated transporter (ZRP), Iron-regulated transporter (IRT)-like Proteins, transporteurs identifiés chez les plantes supérieures (Guerinot, 2000 ; Pence *et al.*, 2000).

(f) : ATP Binding Cassette (famille vaste et diversifiée de protéines membranaires retrouvée chez tous les êtres vivants (Mártinoia *et al.*, 2002).

(g) : Low-affinity Cation Transporter.

(h) : Les auteurs ont montré par électrophysiologie que les canaux calciques des cellules de garde sont perméables au Cd^{2+} (Zorrig, 2011).

1.1.8. Cas du cuivre

C. Sources de cuivre dans les sols

Le cuivre est naturellement présent dans les roches et les sols : les sols développés sur des roches d'origine sédimentaire contiennent plus de cuivre que les sols développés sur des roches de type schistes ou granites (Fernandez-Calvino *et al.*, 2008), les roches les plus concentrées en cuivre sont les roches d'origine volcanique (Kabata-Pendias, 2010). Les minéraux cupriques viennent soit de la roche parentale soit se forment lors de processus pédologiques par substitution à d'autres cations métalliques ou par co-précipitation avec des carbonates magnésiens ou calciques, ou encore avec des oxydes de fer, de manganèse et d'aluminium (McBride, 1981 ; Cetois *et al.*, 2003).

Ainsi, suivant la concentration initiale de la roche mère et en fonction des processus pédogéochimiques, le fond pédogéochimique en cuivre des sols va varier. Les concentrations actuelles de cuivre dans des sols sont le résultat de l'accumulation de différentes sources. Ainsi, les retombées atmosphériques qui se déposent sur les sols peuvent avoir des origines naturelles telles que l'érosion éolienne, les éruptions volcaniques, les sels marins et les feux de forêts ou des origines anthropiques comme les activités industrielles, minières, agricoles et l'incinération de déchets (Tiller et Merry, 1981, Baker et Senft, 1995, Bourrellet et Berthelin, 1998). Par exemple, les retombées atmosphériques moyennes sont de 9 g/ha/an en France (Sogreah, 2007). Aux retombées atmosphériques viennent s'ajouter dans les sols agricoles des apports anthropiques liés aux pratiques agricoles : fertilisation, épandages de déjections animales, de boues ou de composts, chaulage et traitements phytosanitaires.

La teneur en cuivre est plus élevée dans les premiers centimètres du sol ou le premier horizon puis décroît fortement avec la profondeur (Brun *et al.*, 1998, Komarek *et al.*, 2008, Villanneau *et al.*, 2008). En effet, le cuivre s'accumule surtout dans les horizons superficiels du sol (Brun *et al.*, 1998, Pietrzak et Mc Phail, 2004) car il y est rapidement complexé, notamment par la matière organique. Par conséquent, le cuivre pollue peu les horizons profonds ou les eaux souterraines par lixiviation (Delas, 1963) bien qu'il existe un risque de contamination des eaux de ruissellement (Robert, 1995). Par contre, l'érosion éolienne et le lessivage des sols cultivés entraînent une accumulation du cuivre par dépôt sédimentaire ce qui explique la concentration élevée trouvée parfois dans les eaux drainées à proximité des surfaces cultivées (Aldrich *et al.*, 2002, Xue *et al.*, 2003, Van Hullebusch *et al.*, 2003, Banas *et al.*, 2010).

- **Le cuivre dans les différents compartiments du sol**

Dans le sol, le cuivre se complexe très rapidement à de nombreux éléments qui vont limiter sa mobilité. On distingue généralement la phase solide du sol de la solution du sol (figure 2), le cuivre étant majoritairement présent dans la phase solide du sol. La répartition du cuivre entre les différents compartiments du sol dépend de la composition minérale et organique des sols et de leurs propriétés physicochimiques comme la température, le pH, et l'humidité (H).

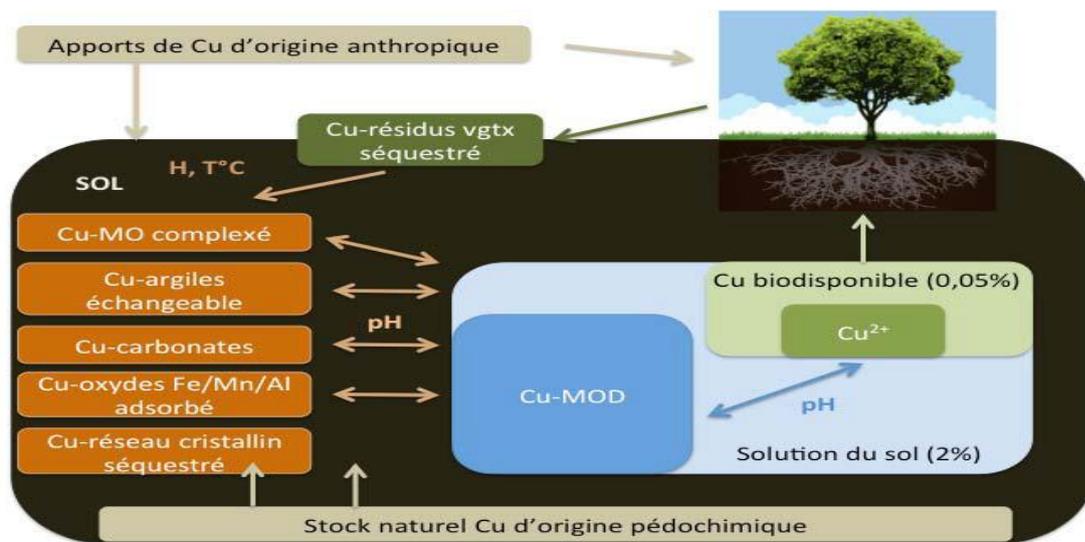


Figure 2: Différentes formes de cuivre dans le sol en fonction des échanges entre les compartiments du sol. (MOD = matières organiques dissoutes, H=humidité)(Anatole-Monnier, 2014).

D. Biodisponibilité du cuivre dans le sol

Il n'existe pas à l'heure actuelle de mesure permettant d'évaluer directement la teneur en cuivre disponible dans le sol compte tenu de la diversité des sols et de la complexité des processus physico-chimiques en jeu. Il est seulement possible d'évaluer le teneur en cuivre sous ses différentes formes (totale, complexée, en solution, libre...). Or celles-ci évoluent dans le temps et dans l'espace.

E. Impact des pratiques viticoles sur la disponibilité du cuivre

Dans des sols viticoles, tant que les traitements cupriques se poursuivent, l'accumulation du cuivre dans les horizons superficiels s'amplifie.

Le cuivre d'origine anthropique, dont l'origine a pu être déterminée dans le sol grâce à l'isotope Cu65 (El Azzi *et al.*, 2013), est plus disponible pour les plantes que le cuivre d'origine lithogène (Grupe et Kuntze, 1988). La conversion de cuivre de sa forme active à sa forme résiduelle nécessite des pas de temps importants de plusieurs dizaines d'années.

De fait, il peut donc rester disponible et mobile pendant une longue période (Pietrzak et McPhail, 2004). La proportion de cuivre disponible varie dans le sol : il représente 8 à 12% de la teneur totale en cuivre du sol dans les horizons de surface des sols non contaminés (Pietrzak et McPhail, 2004), de 23 à 60% dans les sols contaminés (Michaud *et al.*, 2007, Duplay *et al.*, 2014).

La qualité des matières organiques comme le compost est très variable et peut donc avoir un impact non négligeable sur la contamination des sols (Farrell et Jones, 2010) et la disponibilité du cuivre (Ingelmo *et al.*, 2012). L'apport d'amendements contaminés en cuivre tels que les boues de stations d'épuration, peut augmenter la teneur en cuivre total du sol. L'apport de matières organiques dans le sol sous forme d'amendements faiblement contaminés en cuivre permet de réduire la disponibilité du cuivre. En vigne, les effets de l'apport d'amendements organiques non contaminé perdurent 10 ans après, en maintenant le cuivre stocké dans les 10 premiers cm du sol (Baize et Tercé, 2002).

Toutefois, dans les sols carbonatés, l'apport de compost augmente la fraction de cuivre échangeable (Flores-Velez, 1996). Par ailleurs, l'apport d'engrais azotés sous forme de nitrate d'ammonium, acidifie le sol, augmente la disponibilité du cuivre et favorise sa biodisponibilité pour la culture (Xie *et al.*, 2009). Certaines pratiques modifient davantage la répartition du cuivre dans les horizons que sa disponibilité. Ainsi, la teneur en cuivre est jusqu'à quatre fois plus élevée sous le rang que dans l'inter-rang pour l'horizon de surface (Pietrzak et Mcphail, 2004, Mirlean *et al.*, 2007, Fernandez-Calvino *et al.*, 2012).

1.1.8.1. Le cuivre dans la plante

Le cuivre étant un oligo-élément essentiel pour les plantes, c'est pourquoi des mécanismes d'absorption puis de transfert vers les organes existent car une déficience en cuivre est préjudiciable à la croissance des plantes. Mais à forte dose, le cuivre devient phytotoxique (Wheeler et Power, 1995). Le seuil de tolérance est variable selon les espèces végétales et les organes cibles.

Le cuivre, un oligo-élément pour les plantes

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

Le cuivre est un des constituants de protéines impliquées dans la photosynthèse comme les plastocyanines des chloroplastes. Son rôle de cofacteur dans le transport d'électrons du photosystème II est également primordial (Marschner, 1995). Il intervient dans la constitution de protéines engagées dans le processus de la respiration mitochondriale (cytochrome oxydase), des réactions d'oxydation de l'acide ascorbique (ascorbate oxydase) et de la détoxification de radicaux superoxydes (superoxyde dismutase) mais aussi de la synthèse de lignine de la paroi cellulaire (peroxydases et phénols oxydases), (Loué,1993 ; Marschner,1995 ; Clemens,2001).

Le cuivre intervient dans le métabolisme et la distribution des hydrates de carbone, des lipides, de la réduction et de la fixation de l'azote (Marschner, 1995). Il intervient dans le contrôle hydrique en influençant la perméabilité à l'eau des vaisseaux xylèmes (Kabata Pendias, 2010).

Teneurs en cuivre dans la plante

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

Pour les racines, la concentration moyenne se situe entre 15 et 25 mg Cu/kg mais peut atteindre de 40 à 24 700 mg Cu/kg lors de fortes contaminations (Brun *et al.*, 2001, Chaignon *et al.*, 2003, Michaud *et al.*, 2007) en fonction des espèces végétales. L'accumulation du cuivre se situe surtout dans les racines fines de diamètre inférieur à 2 mm et pas dans les racines pivotantes (Brun *et al.*, 1998, Chopin *et al.*, 2008). Les grosses racines servent de zone de stockage temporaire tandis que les racines fines sont plus réactives du fait d'une respiration et d'une activité enzymatique plus élevées (Morinaga *et al.*, 2003). Par conséquent, ces dernières assimilent et absorbent davantage les éléments traces (Brun *et al.*, 2001) et sont les premières touchées en cas de phytotoxicité.

Les concentrations moyennes de cuivre dans les feuilles se situent autour de 5 mg Cu/kg et peuvent atteindre de 10 à 49 mg Cu/kg en cas de contamination cuprique (Brun *et al.*, 1998, Brun *et al.*, 2001, Chaignon *et al.*, 2003, Michaud *et al.*, 2007). Normalement, la distribution du cuivre dans les feuilles est relativement uniforme (Scheffer *et al.*, 1979). Mais en cas de contamination cuprique, les concentrations les plus élevées dans les parties aériennes sont observées chez les jeunes organes lors des phases de croissance intensive (Kabata Pendias, 2010) et dans les graines des céréales (Loneragan, 1981).

Les concentrations en cuivre des racines et des feuilles augmentent en cas de contamination élevée au cuivre, surtout dans les racines qui est le compartiment de stockage (Romeu-Moreno et Mas, 1999). De fait, plusieurs auteurs estiment que la teneur en cuivre des racines serait plus pertinente pour évaluer le cuivre biodisponible dans le sol (Toselli *et al.*, 2008) que les parties aériennes. Ce pourrait être un bon indicateur du risque de toxicité, si les racines étaient plus facilement accessibles.

Pourtant selon Miotto *et al.*, (2014) la teneur en cuivre dans la partie symplastique des racines serait constante quelque soit le stade végétatif de la vigne et quelque soit la teneur totale en cuivre du sol, car ce serait surtout la teneur en cuivre de l'apoplasme qui augmente. En outre, les jeunes racines dans lesquelles le cuivre s'accumule le plus, sont les premiers organes dont la croissance est perturbée lors d'une exposition au cuivre, ce qui réduit la quantité de cuivre dans la plante et ses effets toxiques délétères (Miotto *et al.*, 2014). Enfin, l'exposition au cuivre des racines diminue avec la profondeur lorsqu'elles atteignent des horizons moins contaminés (Angelova *et al.*, 1999).

1.1. 8.2. Phytotoxicité cuprique

Un excès de cuivre dans le sol provoque d'abord une rhizotoxicité qui s'exprime par une coloration brune des racines, une diminution de la formation des poils absorbants, une diminution de l'élongation racinaire (Kopittke et Menzies, 2006), un épaississement des racines (Marschner, 1995, Panou-Filotheou et Bosabalidis, 2004) et la diminution de la biomasse racinaire (Bravin, 2008) avant d'affecter la croissance des parties aériennes (Marschner, 1995).

Au niveau des parties aériennes, les symptômes observés sont des atteintes du feuillage telles que des déformations, des décolorations jaunes internervaires caractéristiques des chloroses ferriques (Davis et Beckett, 1978, Michaud *et al.*, 2007) induite par un excès de cuivre, des nécroses et une altération de développement de la vigne (Coïc et Coppenet, 1989, Brun *et al.*, 1998). Dans les cas les plus graves cela peut conduire au nanisme (Marcellin, 1974).

Ces modifications racinaires provoquent une altération de la perméabilité des membranes plasmiques (Kabata Pendias, 2010) ce qui conduit à une perturbation généralisée de l'alimentation de la plante (Panou-Filothéou et Bosabadilis, 2004 ; Sheldom et Menzies, 2005, Kopittke et Menzies, 2006 ; Kopittke *et al.*, 2007b) à partir d'exposition supérieures à $1\mu\text{M}$ de Cu^{2+} libre (Bravin, 2008). L'absorption de Fe, Ca, Mg, Mn, Zn diminue (Loué, 1993, Sheldom et Menzies, 2005, Kopittke et Menzies, 2006, Kopittke *et al.*, 2007a, Toselli *et al.*, 2008) tandis que l'efflux de K et P augmente (Lexmond et Van der Vorm, 1981).

Ainsi, la diminution en potassium s'explique par les modifications de la membrane plasmique due à l'exposition au cuivre, ce qui entraîne une diminution de l'activité de l'ATPase (Mas *et al.*, 1994) et donc de la régulation du potassium. La conséquence qui en découle est une augmentation de l'efflux de K (Lexmond et Van der Vorm, 1981) et une diminution du flux d'eau dans la plante (Romeu-Moreno et Mas, 1999). La réponse physiologique de la plante à une exposition élevée au cuivre serait donc une restriction en eau et une diminution de la translocation des éléments minéraux (Romeu-Moreno et Mas, 1999) ce qui explique le ralentissement de croissance observé.

- *Effet sur la photosynthèse*

La chlorose ferrique induite par un excès de cuivre est un symptôme couramment observé sur les parties aériennes en cas de phytotoxicité cuprique (Kabata-Pendias, 2010). Cela s'explique par l'antagonisme fer-cuivre pour les transporteurs utilisés lors de l'absorption racinaire (Lexmond et Van der Vorm, 1981) ou lors de la translocation vers les parties aériennes (Romeu-Moreno et Moreno, 1999 ; Toselli *et al.*, 2008). Par conséquent, la teneur en fer dans la plante décroît (Kopittke et Menzies, 2006), notamment au niveau des chloroplastes, dont le nombre diminue (Panou-Filothéou *et al.*, 2001), ce qui perturbe rapidement la synthèse de la chlorophylle.

Les teneurs en chlorophylle et en caroténoïdes décroissent à leur tour (Ouzounidou *et al.*, 1992, Lou *et al.*, 2004, Rouphael *et al.*, 2008), on observe alors une décoloration internervaire caractéristique. Comme le fer joue un rôle dans le photosystème II mais également comme enzyme dans le processus de croissance et de développement de la plante (Ksouri *et al.*, 2005, Bert *et al.*, 2013), la chlorose induit une perturbation de la photosynthèse (Rouphael *et al.*, 2008, Cambrolle *et al.*, 2013), de la conductance stomatique (Rouphael *et al.*, 2008) une diminution de l'assimilation de l'azote (Llorens *et al.*, 2000, Cambrolle *et al.*, 2013), et une perturbation de l'absorption des autres cations.

Le ralentissement de la croissance est un symptôme de déficience en fer qui précède les symptômes de chlorose (Gruber et Kosegarten 2002, Diaz *et al.*, 2009). Pour pallier à la déficience en fer, notamment dans les sols calcaires, les monocotylédones secrètent des phytosidérophores au niveau racinaire qui vont chélater le fer. Le complexe ionphytosiderophore est alors transporté dans la plante (Römheld et Marschner, 1986). Les dicotylédones modifient leur métabolisme racinaire en secrétant davantage de protons ou d'acides organiques comme les citrates et les malates afin d'augmenter la disponibilité du fer sous sa forme soluble assimilable Fe^{2+} (Ollat *et al.*, 2003). Or, ces deux processus augmentent aussi la capacité d'acquisition d'autres éléments métalliques comme le cadmium, le zinc, le cuivre ou le nickel (Michaud *et al.*, 2007). En cas d'excès de cuivre dans les sols, la complexation du cuivre avec les phytosidérophores inhibe alors l'acquisition du fer (Michaud *et al.*, 2007) ce qui paradoxalement entretient l'effet chlorosant.

- **Effet à l'échelle cellulaire**

A l'échelle cellulaire, le cuivre provoque l'inhibition de la division (Eleftheriou et Karataglis, 1989), et de l'élongation cellulaire par augmentation de la rigidité des parois du fait du remplacement des ions Ca^{2+} par les Cu^{2+} dans l'apoplasme (Arduini *et al.*, 1994). La ramification racinaire augmente mais les racines ne se développent pas et restent à l'état de renflement au niveau subapical (Kopittke *et al.*, 2007, Bravin, 2008).

De plus, l'excès de cuivre, stocké dans les vacuoles des cellules situées sous l'endoderme des racines pour éviter le transfert du cuivre vers les parties aériennes, peut provoquer des ruptures au niveau des racines qui sont alors coupées en deux (Kopittke *et al.*, 2009).

1.1.8.3. Les transporteurs du cuivre

Dans la cellule le Cu se situe dans le cytosol, dans le réticulum endoplasmique, dans les mitochondries, dans les chloroplastes et dans l'apoplaste (Pilon *et al.*, 2006). Il y a trois principales catégories de transporteurs impliqués dans l'homéostasie du Cu dans la cellule (tableau 2), les « heavy metal ATPase » (HMA), les Cu transporter family (COPT et CTR) et les chaperonnes du Cu. Les HMA, COPT et CTR sont des transporteurs membranaires qui permettent l'entrée et la sortie du Cu au niveau de la cellule et des organites tandis que les chaperonnes sont impliquées dans l'assignation et l'insertion du Cu en tant que cofacteur au niveau du site actif des protéines cibles (Hall et Williams 2003).

Tableau 2 : Transporteurs cellulaires du Cu et leur fonction (Clemens, 2008).

Nom	Type	Localisation cellulaire	Rôle
RAN1 = HMA7	Response to antagonist or Heavy metal ATPase	Post-Golgi	Assignation du Cu aux récepteurs de l'éthylène
PAA1 = HMA6	Heavy metal ATPase	Chloroplastes	Entrée du Cu dans le stroma pour la Cu/Zn SOD du stroma
PAA2 = HMA8	Heavy metal ATPase	Thylakoides	Entrée du Cu dans le lumen pour la plastocyanine
HMA 5	Heavy metal ATPase	Membrane plasmique	Efflux du Cu
HMA1	Heavy metal ATPase	Chloroplastes	Entrée dans le stroma
COPT1	Copper transporter protein	Membrane plasmique	Entrée dans le cytosol
ATX1 = CCH	Copper chaperonne	Cytosol	Interaction avec CTR1, COPT1 et assignation à CCC2 et RAN1
CTR1	Copper transporter family	Membrane plasmique	Entrée dans le cytosol
CCC2	Heavy metal ATPase	Post-Golgi	Entrée dans l'appareil post-Golgi
COX17	Copper chaperonne	Cytosol	Assignation à la cytochrome c oxydase
CCS1	Copper chaperonne	Cytosol	Assignation à la Cu/Zn SOD cytosolique

1.1.8.4. Le cuivre induit un stress oxydant

L'excès de Cu dans les cellules est à l'origine d'un stress oxydant (Mench *et al.*, 1998 ; Pilon-Smits, 2005 ; Boojar et Goodarzi, 2007).

Le Cu va induire la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de radicaux libres (Hall, 2002) car il stimule des réactions qui en produisent, comme les réactions d'Haber-Weiss et de Fenton. La réaction d'Haber-Weiss se décompose en deux étapes, une première réaction qui transforme le radical superoxyde ($O_2\cdot^-$) en oxygène grâce à un ion métallique et une deuxième réaction qui transforme le peroxyde d'hydrogène en radical hydroxyle ($\cdot OH$) et groupement hydroxyle (OH^-), c'est la réaction de Fenton.

La réaction nette de ces deux étapes est catalysée par le Cu et conduit à la transformation du radical Superoxyde et du peroxyde d'hydrogène en oxygène, radical hydroxyle et groupement hydroxyle (Kehrer, 2000 ; Seol et Javandel ,2008). Le Cu peut céder des électrons comme tous les cations, qui vont réduire l'oxygène et ses dérivés en ROS (Remon, 2006). Les ROS sont dangereux pour les cellules car s'ils ne sont pas réduits ils altèrent les protéines et les acides aminés, l'ADN, l'ARN et entraînent la peroxydation des lipides membranaires (Cuypers, 2000 ; Boojar et Goodarzi, 2007).

Le Cu peut inhiber l'activité de certaines enzymes en remplaçant un autre élément comme le Fe dans leur site actif mais aussi en modifiant leur structure (Chaterjee et Chaterjee, 2000 ; Hall, 2002). Pour lutter contre les ROS les plantes disposent de métabolites anti-oxydants de faible poids moléculaire comme l'ascorbate ou vitamine C (AS), le glutathion réduit (GSH) et l' α -tocophérol ou vitamine E et d'enzymes comme la superoxyde dismutase (SOD), les catalases (CAT) et les peroxydases (POD) dont l'ascorbate peroxydase (APOD) (Cuypers *et al.*, 2000 ; Boojar et Goodarzi , 2007). D'autres POD comme les gaïacols peroxydases (GPOD) et les syringaldazine peroxydases (SPOD) sont trouvées dans la littérature (Cuypers *et al.*, 2002).

1.1.9. La nutrition minérale une solution pour atténuer les effets toxiques des métaux lourds (Cd et Cu)

D. Les minéraux dans le sol

Les végétaux puisent les minéraux nécessaires à leur croissance dans la solution du sol, au contact des racines. Sa composition exacte en minéraux varie suivant les sols et très souvent difficile à déterminer. Les ions y sont inégalement représentés. On y trouve essentiellement Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , Na^+ , HCO_3^- , NH_4^+ , BO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , à des concentrations pouvant atteindre plusieurs milliéquivalents/litre. On y trouve également la majorité des oligo-éléments, le plus souvent à l'état de trace : Fe, Cu, Mn, Zn, B, Mo, etc.

Il faut noter qu'alors ce sont essentiellement sous la forme d'ions minéraux que les éléments nutritifs sont prélevés par les racines. Cependant, les végétaux se développant dans des conditions climatiques ou de sol pauvres et acides, peu favorables à la minéralisation de la matière organique (en altitude ou sous les latitudes élevées), peuvent absorber des quantités significatives d'azote sous la forme d'acides aminés.

La solubilité de ces ions dépend essentiellement de la valeur du pH. La valeur du pH des sols siliceux est proche de 5 et celle des sols calcaires voisines de 8. Elle peut atteindre 3 pour les tourbières et 9 pour les sols salés. Un pH acide favorise la solubilisation des ions en particulier celle des phosphates et des carbonates de calcium. En milieu acide la forme H_2PO_4^- est favorisée alors qu'à pH basique c'est la forme HPO_4^{2-} qui est présente. Le phosphate peut précipiter sous forme de sels d'aluminium, de calcium ou de fer suivant le pH. Le fer, sous forme Fe^{2+} (ferreux) ou Fe^{3+} (ferrique), est un élément métallique indispensable au transfert d'électrons donc impliqué dans les réactions d'oxydo-réduction.

Dans la solution du sol, c'est habituellement le fer ferrique qui domine largement, excepté à pH élevé et surtout lorsque les conditions deviennent réductrices, du fait d'une moindre aération du sol suite à un excès d'eau par exemple. Un pH basique entraîne pour le fer la formation d'hydroxydes insolubles.

Les acides organiques et phénoliques, en particulier les acides humiques et fulviques des sols, sont connus pour être d'excellents chélateurs naturels du fer, du Zn et d'autres métaux tels que le cuivre. Ainsi chélaté, le métal échappe à l'attraction des anions extérieurs et à la précipitation. Il reste ainsi soluble dans la solution du sol, à des concentrations très supérieures à celles de Fe^{3+} .

Les microorganismes produisent divers types de sidérophores qui sont des chélateurs plus au moins efficaces. Les graminées sont connues pour produire des phytosidérophores dans le même but de faciliter l'absorption du fer, du Zn du Cuivre.

Dans les écosystèmes, les ions nutritifs en solutions dans l'eau du sol sont relativement peu abondants et généralement peu mobiles car souvent adsorbés (cations essentiellement) sur les colloïdes de la phase solide ou immobilisés dans celle-ci sous la forme de précipités minéraux ou de composés organiques.

Il existe cependant de grandes différences de mobilité suivant les ions nutritifs considérés, le nitrate étant beaucoup plus mobile que les ions phosphates, l'ammonium et le potassium ayant une mobilité intermédiaire. Ainsi, les quantités de nutriments transférées vers la surface des racines en accompagnement du flux d'eau lié à la demande transpiratoire de la plante ne couvrent pas les besoins des plantes (Marschner, 2012).

E. Élément étudiés

Notre choix s'est porté sur 2 éléments nutritifs essentiels pour la plante le magnésium (Mg^{2+}) et le calcium (Ca^{2+}).

- **Le magnésium Mg²⁺**

Le magnésium est reconnue comme étant un élément nutritif essentiel depuis 1925 (Schonewille, 2013), il est essentiel pour la stabilisation des macromolécules tel que les acides nucléiques (Sreedhara et Cowan, 2002), les protéines (Marschner, 2012), la paroi et la membrane cellulaire (Cowan, 2002), il maintient aussi l'activité enzymatique comme celle de H⁺-ATPase, Kinases et polymerases (Cowan, 2002 ; Hermans et Verbruggen, 2005) et l'homeostasie des ROS (Reactive Oxygen Species) sous stress à base d'Aluminium (Al) (Bose *et al.*, 2013). Le Mg sert également à réguler la balance cellulaire (Cation- anion) et c'est un ion avec le K⁺ osmorégulateur de la turgescence cellulaire (Marschner, 2012 ; Gerendas et Fuhrs, 2013).

Il est particulièrement important pour la plante puisque 75% du Mg foliaire est impliqué dans la synthèse de protéines et seulement 15-20% du Mg total est associé aux pigments chlorophylliens (White et Broadley, 2009) agissant principalement comme Cofacteur de plusieurs enzymes impliquées dans la fixation du carbone photosynthétique et du métabolisme (Cakmak et Kirkby, 2008 ; Mathuis, 2009 ; Hermans *et al.*, 2013).

- **Besoin de la plante en Magnésium**

Les besoins optimums en Mg nécessaire à la croissance de la plante sont de 1,5-3,5g par Kg dans les parties végétatives et la concentration du Mg dans la solution du sol varie entre 125μmol L⁻¹ et 8,5mmol L⁻¹ ce qui suffit au développement de la plante (Karley et White, 2009 ; Marschner, 2012).

- **Facteur limitant la disponibilité du Mg**

Sous certaines conditions, le Mg peut être réduit tel que dans le cas des sols acides avec une faible capacité d'échange cationique sachant que 70% des terres arables sont acides.

Aussi les fortes précipitations dans les régions Tropicales conduisent à la lixiviation du Mg (Gransee et Fuhrs, 2013 ; Sun *et al.*, 2013), la toxicité par l'Al (Chen et Ma, 2013), le stress thermique (Mengutay *et al.*, 2013) les sols arides (Gransee et Fuhrs, 2013) et une grande compétition entre éléments comme pour le potassium (K⁺) , le calcium Ca²⁺, l'ammonium (NH₄) et le sodium (Na) ; en particulier les déséquilibres des cultures à long terme (NPK)

ce qui conduit à l'épuisement du Mg. Ces conséquences soulignent l'importance des caractéristiques physicochimiques des sols qui représentent des facteurs importants dans la disponibilité du Mg^{2+} pour les plantes (Wanli *et al.*, 2016).

- Interaction du Mg avec d'autres éléments

Il existe des interactions entre le Mg^{2+} et d'autres ions. Les fortes concentrations de K^+ et de Ca^{2+} ont pour résultat de diminuer la disponibilité du Mg^{2+} au niveau racinaire des plantes (Chou *et al.*, 2011 ; Sun *et al.*, 2013).

Alors que l'addition de fortes concentrations de Mg^{2+} réduit l'inhibition de la croissance et le développement induit par plusieurs métaux lourds (Al^{3+}). La toxicité due au cuivre est quant à elle, atténuée par un traitement à base de Mg chez l'Orge (Lock *et al.*, 2007), le Blé (Luo *et al.*, 2008), le Dolique (Kopittke *et al.*, 2011) et la vigne (Chen *et al.*, 2013 ; Juang *et al.*, 2014). Mais ce n'est pas le cas chez la Betterave sucrière (Saleh *et al.*, 1999) et la Laitue (Le *et al.*, 2012) ce qui suggère que l'influence du Mg^{2+} sur la phytotoxicité du Cu^{2+} dépend fortement de l'espèce.

Cependant, de fortes concentrations de Mg^{2+} atténuent l'inhibition de la croissance chez la Moutarde soumise à une toxicité due au Cadmium (Cd) (Kashem et Kawai, 2007), également, un prétraitement des plantes avec du Mg préviendrait la décoloration de jeunes feuilles causée par l'exposition à de fortes concentrations de cadmium chez *Arabidopsis* (Hermans *et al.*, 2011) et chez le Riz (Chou *et al.*, 2011).

• Le Calcium

Le calcium (Ca) est un élément nutritif essentiel c'est un cation bivalent qui joue un rôle crucial dans la régulation de la croissance et du développement des plantes. Il joue un rôle impératif dans le contrôle de la structure et de la fonction de la membrane (Marschner, 2012). Le Ca en se liant aux phospholipides, stabilise les bicouches lipidiques qui fournissent par conséquent une intégrité structurale aux membranes cellulaires. Il est extrait de la solution du sol par les racines puis transporté vers la tige à travers le xylem (White et Broadley, 2003).

Le Ca contribue à réguler les effets négatifs du stress abiotique grâce à la régulation du métabolisme antioxydant et les relations hydriques. Cependant, les rôles de Ca dans la régulation du stress des métaux lourds restent à déterminer. Il serait donc très important d'étudier si un accroissement de la concentration de Ca aurait un impact sur l'atténuation des effets toxiques des métaux lourds, comme le Cd, sur la croissance et le développement des plantes.

Besoin de la plante en calcium

Les plantes cultivées avec une quantité adéquate de Ca dans leurs habitats naturels ont des concentrations de Ca dans la tige qui varie entre 0,1 et 5% de leur poids sec (Marshner, 1995). Ces valeurs reflètent à la fois la disponibilité de Ca dans l'environnement et les apports en Ca contrastés des différentes espèces végétales, il se trouve que la carence en calcium est rare dans la nature mais peut se produire sur des sols à faible saturation de base et / ou de hauts niveaux de dépôt acide (Mc Laughlin et Wimmer, 1999). Ceux-ci surviennent généralement lorsque suffisamment de Ca est momentanément indisponible pour les tissus en développement. Lorsque ce dernier est présent excessivement dans la solution de la rhizosphère, cela se traduit par une réduction du pourcentage de germination des graines et une inhibition de la croissance (White et Broadley, 2003).

Interaction avec d'autres éléments

Le calcium interagit avec le potassium K^+ et le phosphore P de façon antagoniste et très légèrement avec le Mg^{2+} .

F. Effets du cadmium sur la nutrition minérale

Les effets néfastes du cadmium pourraient aussi être liés à une altération de l'absorption et de la distribution des éléments minéraux indispensables pour le fonctionnement de la plante. En effet, la présence du cadmium dans le milieu provoque des perturbations de l'alimentation minérale de la plante (Benavides *et al.*, 2005).

Des perturbations de la nutrition potassique en présence de cadmium ont été rapportées dans plusieurs études. Par exemple, une diminution dramatique des concentrations de potassium ont été observées, en présence de cadmium, chez le pois (Sandalio *et al.*, 2001), le pin sylvestre (Kim *et al.*, 2003), l'orge (Guo *et al.*, 2007) et le lupin blanc (Zornoza *et al.*, 2010). Cette diminution peut être expliquée par la fixation du cadmium sur l'ATP ce qui réduit la disponibilité de l'énergie nécessaire au fonctionnement des systèmes de transport membranaire de potassium (Asp *et al.*, 1994).

Cette diminution peut également être attribuée à une diminution du nombre et De même, le cadmium induit une accumulation de composés phénoliques insolubles, comme la lignine, dans les vaisseaux de xylème réduisant ainsi le transport ascendant de l'eau et des éléments nutritifs (Chaoui et El Ferjani, 2004).

Le cadmium provoque également une réduction de la transpiration ainsi qu'une augmentation de la résistance stomatique accompagnée d'un accroissement de la teneur en acide abscissique (ABA) (Sharma *et al.*, 2002 ; Fediuc *et al.*, 2005).

En effet, plusieurs hypothèses ont été élaborées pour expliquer le mode d'action du cadmium sur les mouvements stomatiques. Polle et Schützendübel (2003) suggèrent que la réduction de l'absorption de l'eau chez les plantes, en présence des métaux lourds, induit une surproduction de l'ABA qui va transmettre un signal vers les feuilles répondant par une fermeture de leurs stomates.

D'autres chercheurs suggèrent que la fermeture stomatique, en présence de Cd^{2+} , est due à la ressemblance chimique entre les ions Cd^{2+} et Ca^{2+} (Fediuc *et al.*, 2005 ; DalCorso *et al.*, 2008). En effet, la fermeture stomatique est due essentiellement aux variations du potentiel de turgescence dans les cellules de garde. Elle se déclenche suite à une accumulation des ions Ca^{2+} dans le cytosol des cellules de garde (MacRobbie et Kurup, 2007). Étant chimiquement semblables au ions Ca^{2+} , les ions Cd^{2+} gagnent les cellules de garde par les canaux de Ca^{2+} tension-dépendants et, une fois dans le cytosol, ils imitent l'activité de Ca^{2+} (Perfus-Barbeoch *et al.*, 2002) .

1.1.10. Cas du blé

Le blé (*Triticum durum* Desf.) de par son importance nutritionnelle pour l'homme, est une plante herbacée qui appartient au groupe des céréales à paille (famille des poacées) cultivée pour son grain. On distingue deux espèces de blé :

- Le blé tendre, dont le grain, après broyage et tamisage, fournit une farine panifiable.
- Le blé dur, qui est essentiellement cultivé pour la semoulerie.

Les deux appartiennent au genre *Triticum* qui comporte de nombreuses espèces qui sont réparties en trois groupes selon leur nombre de chromosomes :

Le groupe diploïde qui est le *Triticum monococcum* ;

Le groupe tétraploïde représenté par *Triticum dicoccum* où l'on rencontre le blé dur.

Le groupe hexaploïde représenté par *Triticum aestivum* auquel appartient le blé tendre.

Le premier groupe est originaire du foyer Syrien et Nord Palestien, le second groupe est originaire du foyer Abyssien ; enfin le dernier groupe a pour origine le foyer Afghano-indien (Ould Babana, 1999).

Le cycle évolutif du blé est représenté comme suit :

- Période végétative : du semis au stade tallage herbacé ;
- Période de reproduction : du stade tallage herbacé à la floraison ;
- Période de maturation : de la floraison à la récolte (Zadocs *et al.*, 1974).

1.1.11. But du travail

Cette thèse a été initiée dans un but bien précis qui n'est autre que de trouver une solution à la pollution métallique dans notre cas par deux éléments : le Cadmium et le Cuivre.

Aussi, les données bibliographiques ont démontré la tolérance du blé dur à certains stress tel que le stress hydrique et salin d'où le choix de l'espèce.

Notre étude a mesuré :

- En premier lieu l'effet de ces métaux et leur interaction avec le magnésium et le Calcium sur les paramètres physiologiques par la détermination du pourcentage, du nombre et de la longueur moyenne des racines.
- L'effet de ces mêmes métaux sur les paramètres biochimiques : quantité de protéines totales.
- Et enfin, la mesure de certains biomarqueurs de stress métallique
 - Enzymatique : CAT et GST.
 - Non Enzymatique : GSH.
- En second lieu cette étude a permis de comparer l'effet du cuivre et du cadmium et leurs interactions avec du Magnésium et du calcium sur la partie souterraine et aérienne du blé dur.

Tous cela en s'appuyant sur des données statistiques (ANOVA) à un facteur contrôlé.

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

Notre travail s'est déroulé au laboratoire de Toxicologie Cellulaire de l'Université Badji Mokhtar d'Annaba.

2.1. Matériel expérimental

Le matériel végétal utilisé est le blé dur *Triticum durum* Desf. classé selon Cronquist, 1981 comme suit :

Régne	Plantea
Sous-Régne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous-classe	Commelinidae
Ordre	Cyperales
Famille	Poaceae
Sous/famille	Pooideae
Tribue	Triticeae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i>

La variété choisie est *Siméto* (variété italienne) provenant de l'Office Interprofessionnelle des Céréales (O. A.I.C.) d'El Hadjar et dont les caractéristiques sont représentées dans le tableau3.

Tableau 3 : Caractéristiques de la Variété *Siméto* (Axiim-Spa. com 2013-2014).

Variété	<i>Siméto</i>
Morphologie	
Plante	Taille moyennement basse
Epi	Compacte à barbe noire
Grain	Poids élevé
Cycle	Précoce
Productivité	Moyenne
Qualité technologique	
Poids de 1000grains	50 à 55g élevé
Poids spécifique	81,7 élevé
Teneurs en protéines	élevée
Teneur en gluten	élevée
Adaptation	
Variété recommandé en zone aride semi aride et intermédiaire résistante à l'averse et la sécheresse, tolère le froid	
Maladies	Tolérante à la Septoriose Rouille brune Résistante à l'Oidium

2.2. Culture des graines en Boite de Petri

- **Choix des graines**

Les graines de blé dur (*Triticum durum* Desf. Var. *Siméto*) sont prises de façon aléatoire puis sont désinfectées par une solution d'eau oxygénée à 10% (v/v) pendant 15min, rincées abondamment à l'eau distillée et mises à germer dans des boites de Pétri tapissées de papier filtre imbibé d'eau distillée. La germination est réalisée à l'obscurité et à température moyenne de $23 \pm 1^\circ\text{C}$.

- **Conditions de culture**

Les graines de blé sont mises à germer dans des boîtes de Pétri pendant (48,72 et 96h) à une température moyenne de 23°C. Les résultats pour chaque boîte sont exprimés en pourcentage (%).

- **Traitement des graines**

Lors de notre travail, nous avons appliqué deux traitements :

Un traitement simple avec des concentrations croissantes de Magnésium, Calcium, Cuivre à (5, 20 et 50)μM et une seule concentration de Cadmium à (100 μM) ;

Un traitement combiné à (5/100, 20/100 et 50/100)μM pour le Magnésium, le Calcium et le Cuivre. Trois répétitions sont réalisées pour chaque traitement et les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne. Les variétés non traitées représentent les témoins. Le pH des solutions varie entre 5,5 et 6,5.

2.3. Mesure des paramètres germinatifs

2.3.1. Pourcentage moyen de germination

C'est le pourcentage des graines germées par rapport au nombre total des graines par boîte de Pétri. 5mm de longueur de radicule est considérée comme positive (**Kaur et Duffus, 1989**).

2.3.4. Nombre moyen de racines

Le nombre total des racines pour chaque graine, chaque condition de traitement et chaque temps de germination est ensuite déterminé.

2.3.5. Longueur moyenne des racines

Après avoir retiré les graines des boîtes de Pétrie, on mesure la longueur moyenne de chaque racine (cm). Puis on calcule la différence entre les temps d'application soit : J4-J3, J3-J2 on obtient la vitesse de croissance exprimée en cm/j.

2.4. Essai en pots

L'essai est conduit dans le laboratoire de toxicologie cellulaire du Département de Biologie.

- **Dispositif expérimental**

La culture des graines se fait dans des pots en plastique de 6cm de diamètre et 9cm de hauteur, contenant du terreau désinfecté et du gravier avec les proportions suivantes : 3 : 1/3. Les graines de blé dur sont imbibées d'eau distillée pendant 24h ; puis ensemencées au nombre de 15 graines par pots à raison de trois répétitions par traitement. La profondeur du semis est de 1cm. L'arrosage se fait 2 fois par semaine avec de l'eau distillée et une fois par quinzaine par une solution nutritive de Hooshang, 1996 (Tableau 4).

Tableau 4 : Solution nutritive de Hooshang (1996).

Sels	Poids (g /l)	Quantité (ml/l)
KNO₃	100,1	5
KH₂PO₄	136,09	1
Citrate de fer	38,91	1
ZnSO₄	0,28	1
H₃BO₃	1,85	1
MgSO₄	246,4	1
CaCL₂	147	1
CuSO₄	0,25	1
MnSO₄	0,84	1

Au stade 3 feuilles, on applique le traitement simple et combiné avec des solutions de (5, 20 et 50) μM de CaCl_2 , MgSO_4 et CuSO_4 et $100\mu\text{M}$ de CdCl_2 . Les graines non traitées représentent les témoins selon le dispositif si dessous (figure 3) :

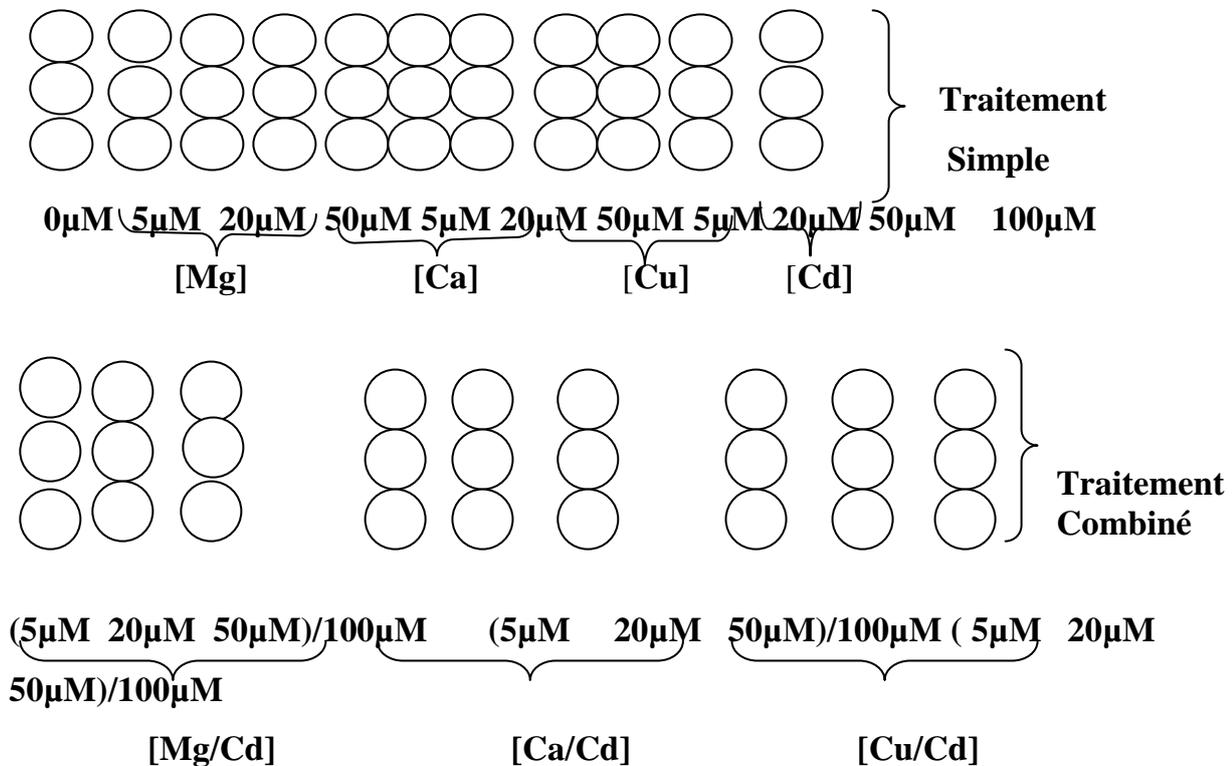


Figure 3 : Dispositif expérimental.

N.B.: Ce dispositif est appliqué aussi bien lors de la germination (boite de Petrie) que pendant la croissance (en pots).

2.5. Techniques analytiques

2.5.1. Dosage des Protéines totales

Les protéines sont dosées par colorimétrie selon la méthode de Bradford, (1976). Le principe de la méthode est basé sur la fixation d'un colorant acide (bleu de coomassie) sur les protéines au niveau de résidus basiques et aromatiques, cette fixation provoque un transfert de sa couleur qui passe du rouge au bleu. Ce changement de coloration est mesuré à une longueur d'onde de 595nm par spectrophotomètre (JENWAY 3600) en utilisant l'Albumine Sérum bovine (BSA) comme standard.

2. 5.2. Dosage des Biomarqueurs

A. Dosages Enzymatiques

- **Dosage de l'activité Catalase (CAT) :** Le dosage spectrophotométrique de l'activité catalase (CAT) est réalisé suivant la méthode de Cakmak et Horst, (1991). La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant trois minutes (spectrophotomètre Jenway 6300) pour une longueur d'onde de 240nm et un coefficient d'extinction linéique molaire $\epsilon = 39400 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{L}$. Pour un volume final de 3ml, le mélange réactionnel contient : 100 μl de l'extrait enzymatique brut, 50 μl de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 à 0,3% et 2850 μl de tampon phosphate (50mM, pH= 7,2). L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique. La réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée. L'activité catalase est exprimée en nanomol/min/mg de protéines.

- **Quantification des mesures spectrophotométriques :**

La formule suivante est utilisée dans la quantification des différentes mesures spectrophotométriques suite aux dosages enzymatiques de la CAT (Servais, 2004).

$$\text{Act.} = \frac{\Delta A \cdot V_t}{\epsilon \cdot \Delta t \cdot L \cdot V_e \cdot p}$$

Act : Activité enzymatique en nmole/min/mg de Protéines

ϵ : Coefficient d'extinction linéique molaire en M

ΔA : Différence moyenne de l'absorbance

V_t : Volume total du mélange réactionnel en ml

V_e : Volume de l'extrait enzymatique en ml

L : Largeur de la cuve de mesure en cm

P : Teneur en protéine en mg.

T : temps de lecture en min

▪ **Dosage de l'activité Glutathion S-Transférase (GST) :**

Préparation de l'extrait enzymatique : La méthode utilisée afin d'obtenir l'extrait enzymatique des racines et des feuilles traité avec du cadmium est celle de Loggini *et al.*, (1999). L'extrait sera utilisé pour la mesure de l'activité du Glutathion transférase (GST). Après 7 jours de traitement, les racines fraîches ainsi que les feuilles (1g) sont broyées à froid à l'aide d'un mortier dans 5ml de tampon phosphate (50mM phosphate, pH=7,5). L'homogénat est ensuite filtré à l'aide d'une toile adéquate avant de procéder à une centrifugation à froid de 12000g pendant 20min (centrifugeuse Sigma 3-16K). Le surnageant obtenu sera utilisé comme extrait pour la détermination des différentes activités enzymatiques.

Dosage de la glutathion S-transférase : celui-ci est réalisé par la méthode de (Habig *et al.*, 1974) les échantillons sont homogénéisés dans un tampon phosphate à pH 6,5 et à 100mM et centrifugés à 9000g pendant 30 min. La méthode consiste à faire réagir les GST_s sur un mélange CDNB (20mM)-GSH (100mM) la variation de la densité optique due à l'apparition du complexe CDNB-GSH est mesurée toutes les 15 secondes pendant 2 minutes à 340nm. Les concentrations de la GST sont exprimées en nanomole /min/ mg de protéines.

B. Le Dosage non Enzymatique

- **Le Glutathion (GSH) :** L'extrait enzymatique est homogénéisé dans une solution d'E.D.T.A à 0,02M et subit une déprotéinisation par l'acide sulfo-salicylique 0,25%. Après centrifugation à 2000 g pendant 10 minutes le surnageant est utilisé pour le dosage spectrophotométrique avec le réactif DTNB à 0,01M à 412nm. Les concentrations du GSH sont dosées par la méthode de (Weckbecker et Cory, 1988) et exprimées en μM / mg de protéines.

NB : le dosage de la GST et du GSH est réalisé après 7jours afin de suivre le comportement de ces derniers durant le stress oxydatif.

2.6. Analyses statistiques

L'analyse de la variance à un facteur contrôlé est utilisée pour l'estimation des différences signalées pour les différents paramètres étudiés sous l'effet des deux types de traitements et en fonction des différentes concentrations du métal et des éléments minéraux (Annexe).

Les résultats sont interprétés comme suit :

Si $P = 0,05$ → il existe des différences significatives. *

Si $P = 0,01$ → il existe des différences hautement significatives. **

Si $P = 0,001$ → il existe des différences très hautement significatives. ***

Chapitre 3

Résultats

3.1. Essai en Boite de Pétri

L'étude *in vitro* a concerné quelques paramètres physiologiques à savoir le pourcentage moyen de germination, la longueur et le nombre moyen de racines.

3.1.1. Paramètres Physiologiques

A. Pourcentage Moyen de Germination (PMG)

- Effet du Magnésium

Les résultats obtenus suite au traitement simple appliqué chez les graines de blé concernant les différentes concentrations de Magnésium ($MgSO_4$), sont illustrés dans les figures 4. La figure 4a montre que les concentrations croissantes de $MgSO_4$ augmentent le pourcentage moyen de germination (> aux témoins) en fonction du temps où il atteint une valeur maximale de 70% alors qu'une diminution du pourcentage moyen de germination est constatée pour la plus forte concentration à 96h.

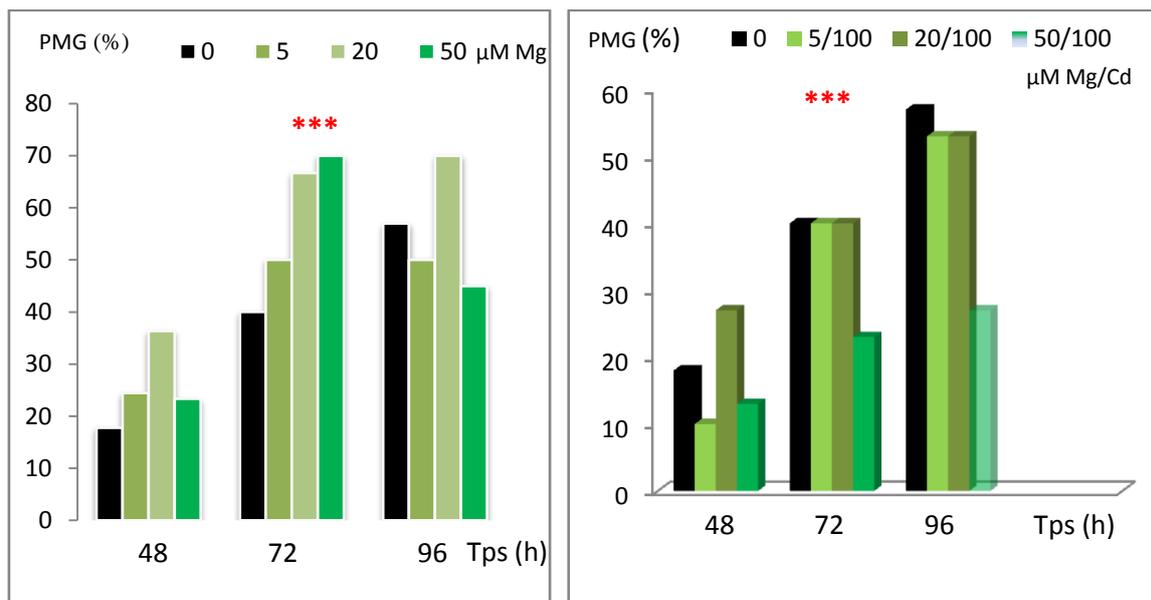


Fig.4a: Effet du Mg sur le PMG des graines de blé.

Fig.4b: Effet du Mg/Cd sur le PMG des graines de blé.

Les résultats obtenus quant au traitement combiné du $MgSO_4/CdCl_2$ sont reportés dans la figure 4b. Une augmentation significative du pourcentage moyen de germination est décelée d'une manière dose dépendante et en fonction du temps. Un pic est constaté pour la concentration (20/100 μM) à 48h comparé aux autres concentrations qui peut atteindre (27%) ce qui est équivalent à deux fois leurs valeurs.

- Effet du Calcium

Quant aux résultats obtenus après traitement simple des graines de blé au calcium (figure 5a) montrent que la plus faible concentration de calcium ($5\mu\text{M}$) stimule la germination des graines de blé (70%) ce qui dépasse nettement celles des témoins (17,78%). La même chose est observée pour 20 et $50\mu\text{M}$ de Calcium.

Les résultats du traitement combiné Ca/Cd sont illustrés quant à eux dans la figure 5b. On y remarque une augmentation du taux de germination de manière dose dépendante et en fonction du temps. Il s'avère que le plus fort pourcentage (77%) est observé pour la plus forte concentration ($50/100\mu\text{M}$) équivalent à 57% par rapport au témoin après 96h d'application du traitement.

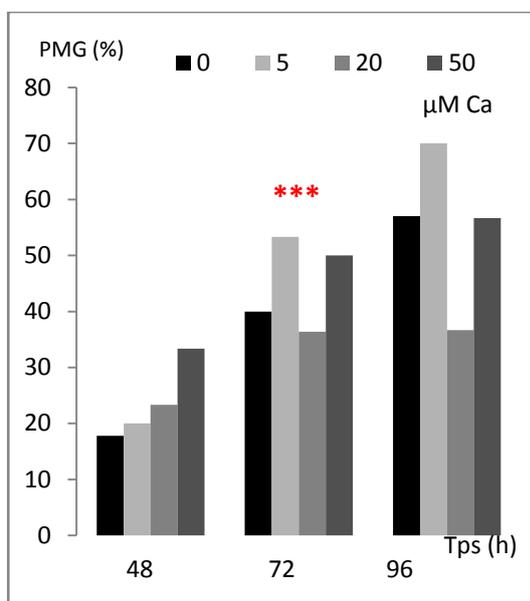


Fig.5a : Effet du Ca sur le PMG des graines de blé.

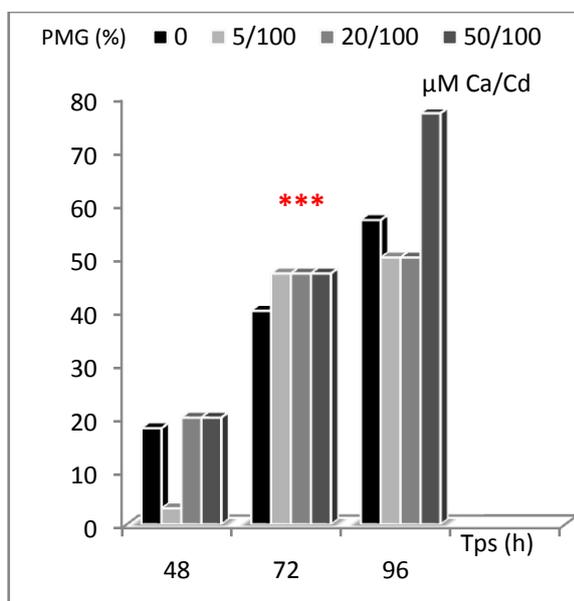


Fig.5b : Effet du Ca/Cd sur le PMG des graines de blé.

- Effet du Cuivre

Pour le cuivre les résultats obtenus après application du traitement simple sont représentés dans la figure 6a. Celle ci montre une augmentation de ce taux en fonction des concentrations croissantes de CuSO_4 et du temps (48, 72 et 96h) par rapport au témoin. En revanche à 96h le taux de germination s'aligne aux témoins quelque soit la concentration appliquée et atteint une valeur constante de $\pm 57\%$.

De même, les résultats obtenus suite au traitement combiné Cu/Cd reportés dans la figure (6b) montrent une augmentation du taux de germination en fonction des concentrations croissantes des métaux et du temps. La plus grande valeur (67%) est observée pour la concentration (20/100 μM) à 96h.

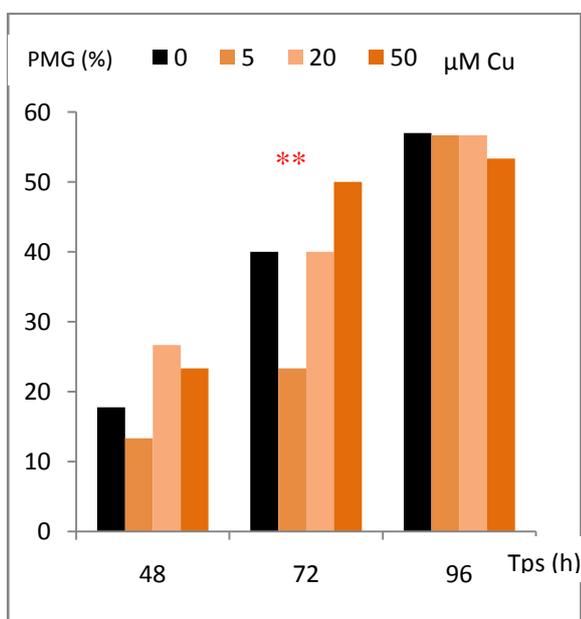


Fig.6a : Effet du Cu sur le PMG des graines de blé.

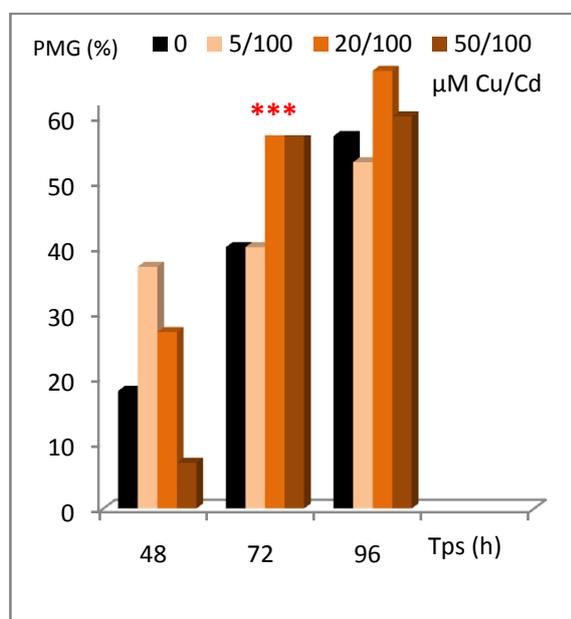


Fig.6b: Effet du Cu/Cd sur le PMG des graines de blé.

- Effet du Cadmium

Concernant le traitement appliqué par le cadmium (figure 7), celui ci montre une augmentation du pourcentage de germination ($\pm 32\%$) après 72h d'application du traitement par rapport au témoin.

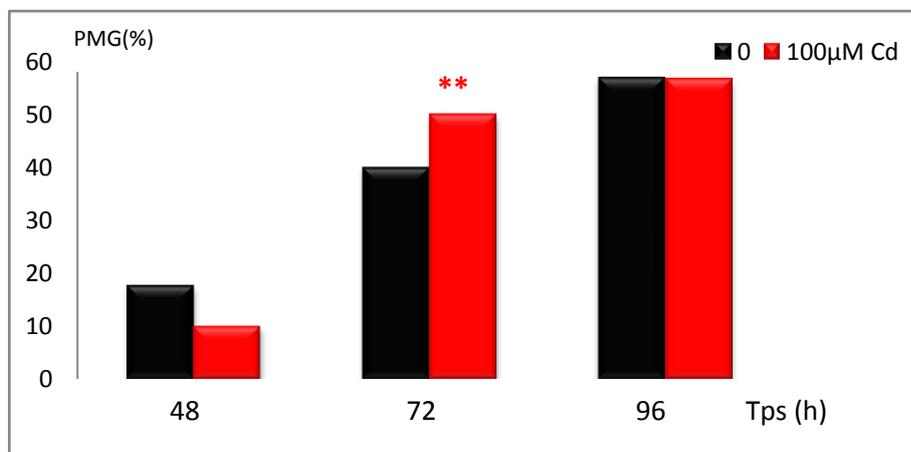


Fig.7 : Effet du Cd sur le PMG des graines de blé.

B. Nombre moyen de racine

- Effet du Magnésium

Les résultats obtenus quant au traitement simple par le $MgSO_4$ et le traitement combiné du $MgSO_4$ avec le $CdCl_2$ sont reportés dans le tableau 5. En effet, on constate que le nombre moyen de racines augmente en fonction du temps et qu'il est inférieur à celui des témoins tout au long de l'expérimentation exception faite à la concentration de $20\mu M$ de $MgSO_4$ (>témoins) à 72h. Il en est de même pour le traitement combiné de $20/100\mu M$ de Mg/Cd qui est légèrement supérieur à celui des témoins au temps 72h et est égale à celui des témoins à 96h.

Tableau 5 : Effet du Mg et Mg/Cd sur le nombre moyen de racines de blé en fonction du temps.

Type de traitement	Simple			Combiné			
	Temps (h)			Mg/Cd (μM)	Temps (h)		
	48	72	96		48	72	96
Mg (μM)							
0	3	3	5	0	3	3	5
5	2	3	5	5/100	2	3	3
20	2	4	4	20/100	1	3,5	5
50	2	3	4	50/100	2	3	4

- **Effet du calcium**

Le tableau 6 regroupe les résultats du traitement à base de Ca et de Ca/Cd appliqué sur les graines de blé dur. On constate que le nombre moyen des racines est égal ou inférieur à celui des témoins pour les deux types de traitements sauf à 72h où la concentration de 50 μ M de CaCl₂ et de 50/100 μ M de Ca/Cd a un nombre moyen de racines supérieur à celui des témoins.

Tableau 6 : Effet du Ca et du Ca/Cd sur le nombre moyen de racines de blé en fonction du temps.

Type de traitement	Simple			Combiné			
	Temps (h)			Ca/Cd (μ M)	Temps (h)		
	48	72	96		48	72	96
Ca (μ M)							
0	3	3	5	0	3	3	5
5	3	3	4	5/100	1	3	3
20	3	3	4	20/100	1	3	4
50	3	4	4	50/100	1,5	3,5	4

- **Effet du Cuivre**

Les résultats obtenus après traitement des graines de blé par du Cu et du Cu/Cd sont mentionnés dans le tableau 7. On remarque que le nombre moyen de racines des graines traitées est inférieur à celui des témoins au début et à la fin de l'expérimentation alors qu'il est égal à celui des témoins à 72h pour le traitement simple. Une légère diminution du nombre moyen de racines est constatée pour le traitement combiné. Alors que seule la concentration de 20/100 μ M de Cu/Cd donne un nombre moyen de racines égal à celui des témoins.

Tableau 7 : Effet du Cu et du Cu/Cd sur le nombre moyen de racines de blé en fonction du temps.

Type de traitement	Simple			Combiné			
	Temps (h)			Cu/Cd (μ M)	Temps (h)		
	48	72	96		48	72	96
Cu (μ M)							
0	3	3	5	0	3	3	5
5	1	3	4	5/100	1,5	3	4
20	2	3	3	20/100	2	3	5
50	2	3	5	50/100	1	3	4

- **Effet du Cadmium**

En fin, le traitement de la variété de blé dur par du cadmium (CdCl₂) est représenté dans le tableau 8. On constate que le nombre moyen de racines augmente en fonction du temps est atteint un maximum de 4 racines à 96h. Cependant, celui-ci reste inférieur à celui des témoins.

Tableau 8 : Effet du cadmium (CdCl₂) sur le nombre moyen de racines de blé en fonction du temps.

Cd (µM)	Temps (h)		
	48	72	96
0	3	3	5
100	1	2	4

C. Longueur moyenne des racines

Effet des traitements simples

L'ensemble des résultats concernant les différents traitements par les métaux lourds et éléments nutritifs (Cd, Cu et Mg, Ca) appliqués chez le blé, est reporté dans le tableau 9. La mesure journalière de la longueur moyenne des racines nous a permis de calculer la vitesse moyenne de croissance journalière (cm/j).

Tableau 9: Effet du Mg, Ca, Cu et Cd sur la vitesse moyenne de croissance des racines de blé en fonction du temps (cm/j).

Elmts (µM)	Tps(h)	Lg Moy racines (cm)			Vitesse de croissance (cm/j)					
		5µM	20µM	50µM						
0	48	0,55			0,00	V1		V2		
	72	1,6			1,05					
	96	2,82			1,22	0,17				
Mg	48	0,84	0,6	0,6	0,84		0,6		0,6	
	72	2,06	1,7	2,03	1,22		1,1		1,43	
	96	3,37	2,86	3,01	1,31	0,09	1,16	0,06	0,98	-0,45
Cu	48	0,6	0,63	0,57	0,6		0,63		0,57	
	72	1,41	1,44	1,34	0,81		0,81			
	96	2,56	2,07	2,18	1,15	0,34	0,63	-0,18		
Ca	48	0,83	0,96	0,93	0,83		0,96		0,93	
	72	2,02	1,94	1,95	1,19		0,98		1,02	
	96	3,23	2,94	3,35	1,21	0,02	1,00	0,02	1,4	0,38
Cd	48	0,37			0,00					
	72	1,06			0,69					
	96	1,83			0,77					

Le tableau montre une augmentation de la longueur moyenne des racines en fonction du temps. Cette augmentation est très significative pour les traitements simples (Mg et Ca) pour 5 et 20 μ M où la vitesse moyenne atteint (0,09/0,06; 0,02/0,02cm/j) simultanément alors que la forte concentration de Mg (50 μ M) freine légèrement la vitesse de croissance qui est estimé à 0,45cm/j. Concernant le traitement par le cuivre, ce dernier stimule la croissance à faible concentration (5 μ M) en fonction du temps cependant à 20 et 50 μ M de Cu, un ralentissement de la vitesse de croissance des racines est constaté qui est équivalent à 0,18 et 0,77cm/j respectivement. En fin, le cadmium stimule la croissance racinaire à partir de 72h (0,69cm/j).

- Effet des traitements combinés

Pour les traitements combinés les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Effet du Mg/Cd, Cu/Cd et Ca/Cd sur la vitesse moyenne de croissance des racines de blé en fonction du temps (cm/j).

Elmts (μ M)	Tps (h)	Lg Moy Racines (cm)			Vitesse de croissance (cm/j)					
		5 μ M	20 μ M	50 μ M		VJ3		VJ3		VJ3
Mg/Cd	48	0,5	0,5	0,56	0,5	VJ3	0,5	VJ3	0,56	VJ3
	72	1,29	1,71	1,66	0,79		1,21		1,1	
	96	2,21	2,59	2,45	0,92	0,13	0,88	-0,33	0,79	-0,31
Cu/Cd	48	0,7	0,73	0,33	0,7		0,73		0,33	
	72	1,75	1,7	1,52	1,05		0,97		1,19	
	96	3,09	3,02	2,43	1,34	0,29	1,32	0,35	0,91	-0,28
Ca/Cd	48	0,4	0,58	0,6	0,4		0,58		0,6	
	72	1,4	1,46	1,54	1		0,88		0,94	
	96	1,73	2,44	3,04	0,33	-0,67	0,98	0,1	1,5	0,56

De Même, le traitement combiné (Ca/Cd) stimule la vitesse de croissance des racines en fonction du temps et des concentrations à l'exception de la plus faible concentration où on observe un ralentissement de 0,67cm/j. En parallèle, le traitement combiné Cu/Cd, retarde la vitesse de croissance d'une moyenne de 0,28cm/j à 50/100 μ M. Enfin, le traitement Mg/Cd, présente un effet négatif sur la croissance des racines à 20 et 50 μ M de magnésium équivalent à 0,31 et 0,33cm/j respectivement.

3.2. Essai en pots

Cette partie consiste à interpréter les résultats obtenus issu de l'essai en pot à travers :

- Une comparaison entre traitements simples et traitements combinés d'une part;
- Une comparaison entre partie racinaire et aérienne (Racines /Feuilles) d'autre part.

En prenant en considération les paramètres suivants : les protéines totales, la GST, la Catalase et le GSH.

3.2.1. Effet des traitements simples et combinés sur la quantité de protéines totales

- Effet du Mg et Mg/Cd sur les racines de blé

L'ensemble des résultats obtenus est reportés dans les figures 8 (a et b). La quantité de protéines subie des fluctuations en fonction des concentrations croissantes d'oligo-éléments et du type de traitements où on constate une augmentation de ce taux pour les concentrations 5 et 50 μ M de Mg et 5/100 et 50/100 μ M de Mg/Cd par rapport au témoin. Alors qu'une diminution est observée à 20 μ M pour les deux traitements.

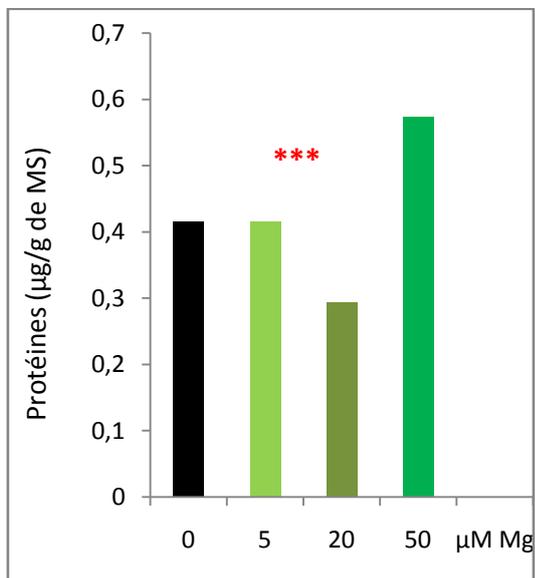


Fig. 8a : Quantité de protéines totales des racines de blé traitées avec différentes [Mg].

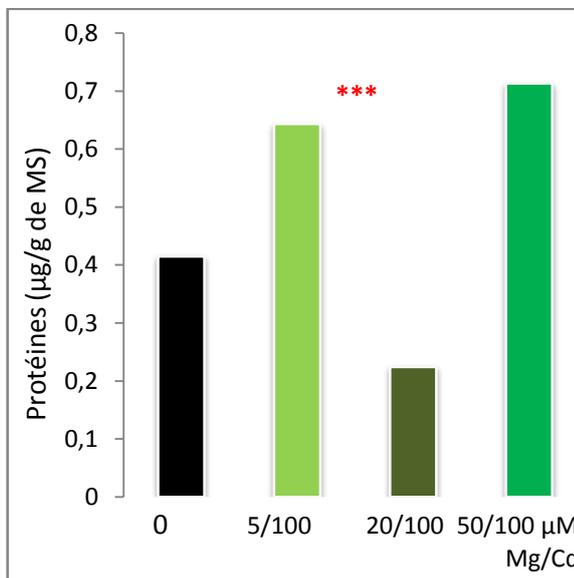


Fig. 8b : Quantité de protéines totales des racines de blé traitées avec différentes [Mg/Cd].

Effet du Mg et Mg/Cd sur les feuilles de blé

De même, la quantité de protéines totale chez les feuilles pour le traitement simple (figure 9a) augmente en fonction des concentrations et atteint une valeur maximale de 0,975 μ g/g de MS à la plus forte concentration mais reste inférieure à celles des témoins. Alors qu'on distingue une diminution de manière dose dépendante qui atteint 0,956 μ g/g de MS à (20/100 μ M) de Mg/Cd chez les traitements combinés (figure 9b).

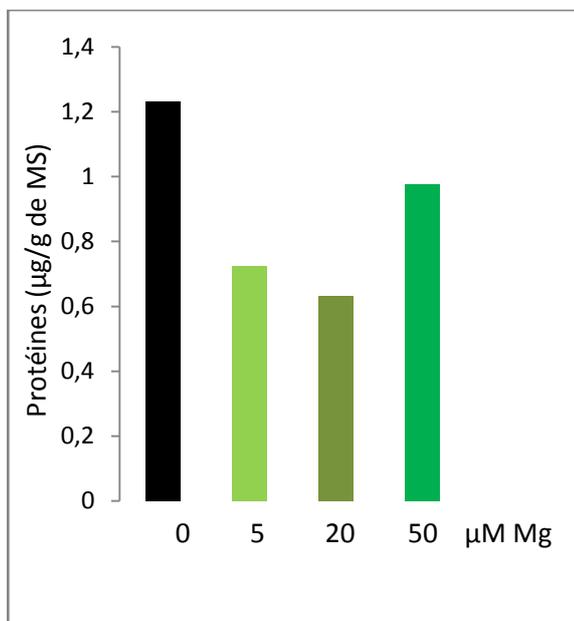


Fig.9a : Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées avec différentes [Mg].

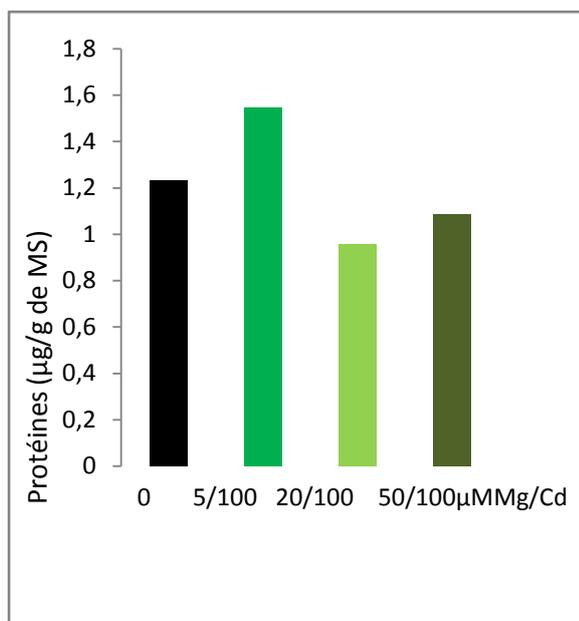


Fig.9b : Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées avec différentes [Mg/Cd].

- Effet du Ca et Ca/Cd sur les racines de blé

Les résultats obtenus quant à la quantité de protéine totale dans les racines de blé traitées par le Ca ou Ca/Cd sont regroupés dans les figures 10a et b. On y constate que la quantité de protéine totale chez les racines traitées par le calcium est supérieure à celles des témoins à la concentration de (20 et 50) μ M de Ca ce qui représente le double de celui des témoins. Par contre, le traitement combiné Ca/Cd augmente la quantité de protéines totales chez les racines de blé pour toutes les concentrations de Ca/Cd avec une valeur maximale de 3,27 μ g/g de MS.

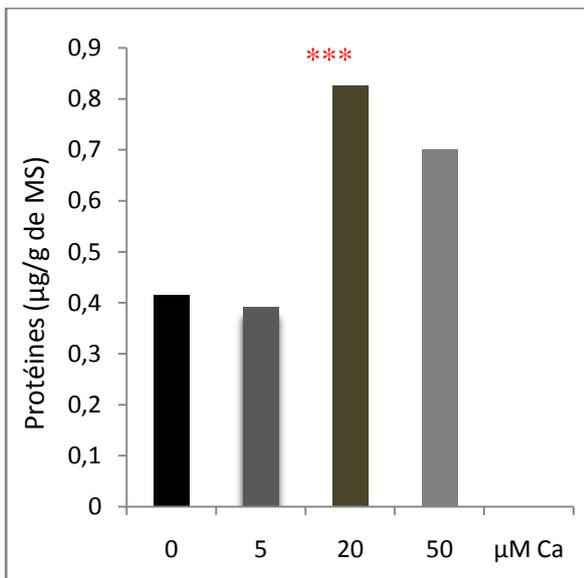


Fig.10a : Quantité de protéines totales des racines de blé traitées avec différentes [Ca].

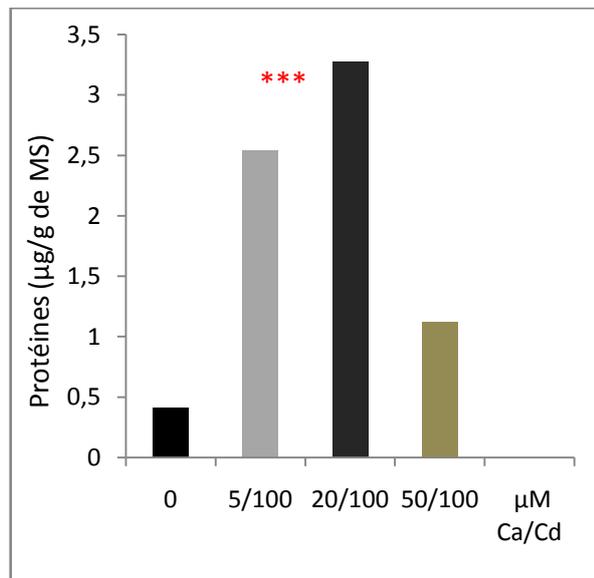


Fig.10b : Quantité de protéines totales des racines de blé traitées avec différentes [Ca/Cd].

- Effet du Ca et Ca/Cd sur les feuilles de blé

Parallèlement, le traitement par le Ca et le Ca/Cd chez les feuilles représenté dans les figures 11a et b montre que la quantité des protéines totales augmente chez les feuilles avec différents traitements (Ca ou Ca/Cd) par rapport au témoin. Cette augmentation est plus significative pour le traitement combiné comparé au traitement simple.

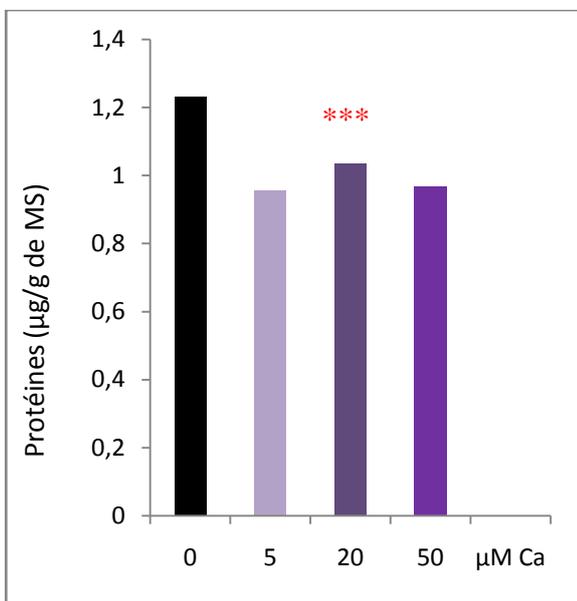


Fig.11a: Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées avec différentes [Ca].

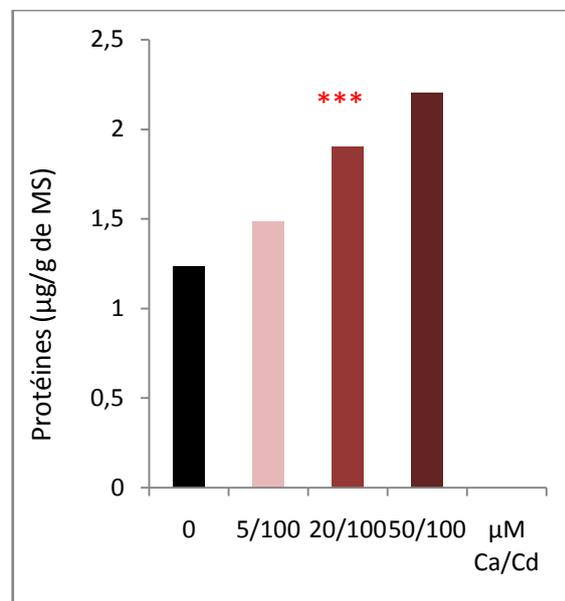


Fig.11b : Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées avec différentes [Ca/Cd].

- Effet du Cu et du Cu/Cd sur les racines de blé

La quantité de protéine totale chez les racines de blé traitées par le Cu et le Cu/Cd est représentée dans les figures 12a et 12b où l'on constate une augmentation non significative de ce taux en fonction des concentrations croissantes du cuivre avec un pic très hautement significatif ($2,68\mu\text{g/g MS}$) observé pour $[20\mu\text{M}]$.

Cependant le traitement combiné Cu/Cd présente une augmentation très hautement significative proportionnelle à la présence du Cu.

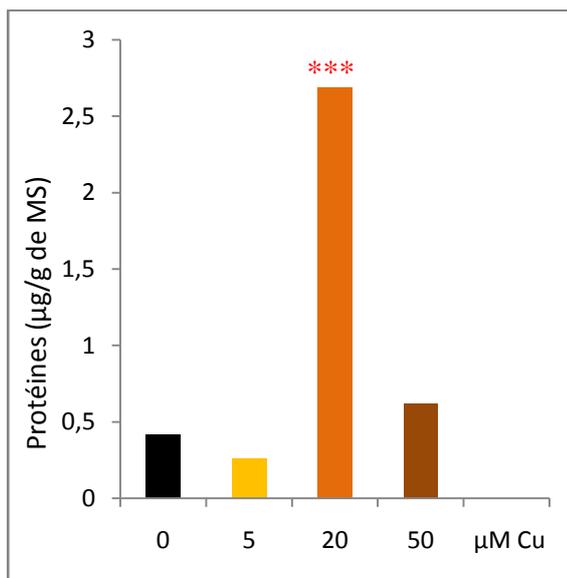


Fig.12a : Quantité de protéines totales des racines de blé traitées avec différentes [Cu].

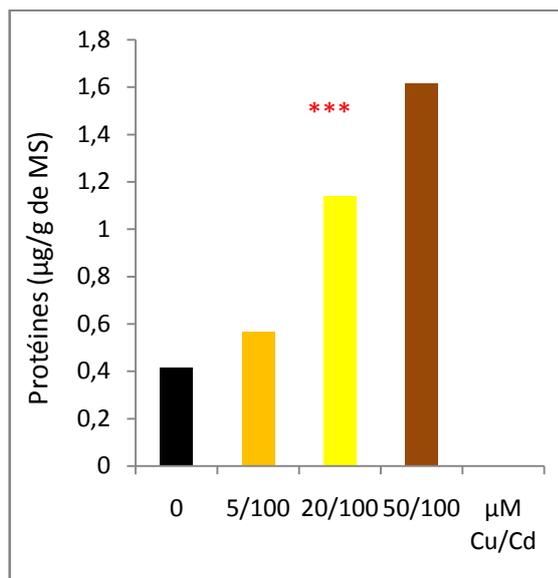


Fig.12b : Quantité de protéines totales des racines de blé traitées avec différentes [Cu/Cd].

- Effet du Cu et du Cu/Cd sur les feuilles de blé

Les figures 13a et 13b représentent la quantité de protéines totales chez les feuilles de blé traitées aux différentes concentrations de Cu ou Cu/Cd. On remarque qu'à $50\mu\text{M}$ de Cu la quantité de protéines totales augmente ($>$ à celle des témoins) chez les feuilles. Alors que le traitement combiné Cu/Cd diminue nettement ce paramètre par rapport au témoin. La plus faible valeur ($0,39\mu\text{g/g MS}$) est observée à $5/100\mu\text{M}$.

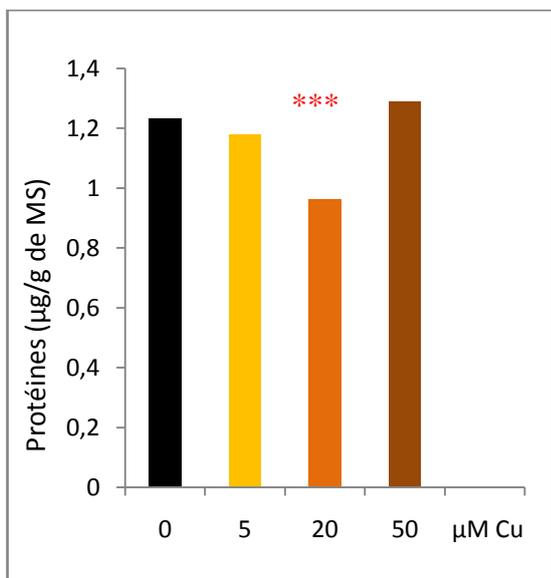


Fig.13a : Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées avec différentes [Cu].

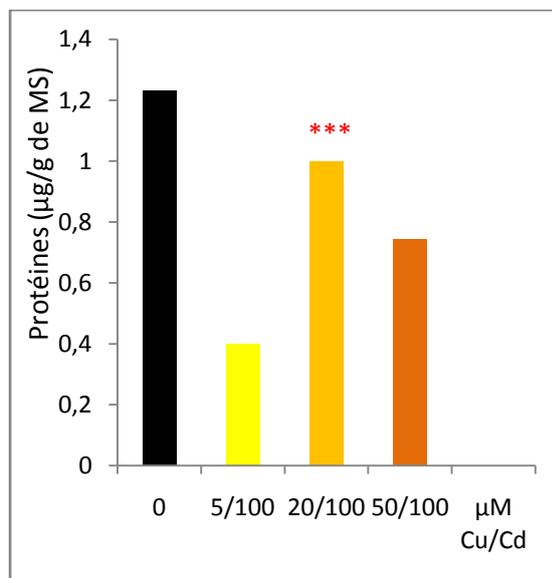


Fig.13b : Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées avec différentes [Cu/Cd] .

- Effet du Cadmium (Cd) sur les racines et les feuilles de blé

Pour ce qui est de l'effet du Cd sur la quantité de protéines totales chez les racines (fig.14a) et les feuilles (fig.14b). On constate que la concentration 100µM de Cd stimule la synthèse des protéines totales ($\approx 0,75\mu\text{g/g}$ de MS) chez les racines équivalente à deux fois la valeur du témoin ($0,41\mu\text{g/g}$ de MS) contrario au niveau des feuilles ce même paramètre est en baisse ($<$ au témoin) et atteint la valeur de $1,12\mu\text{g/g}$ de MS.

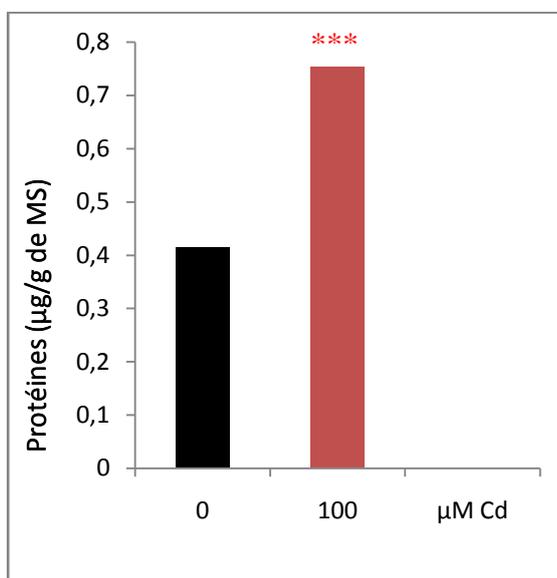


Fig.14a: Quantité de protéines totales des racines de blé traitées avec 100µM de Cd.

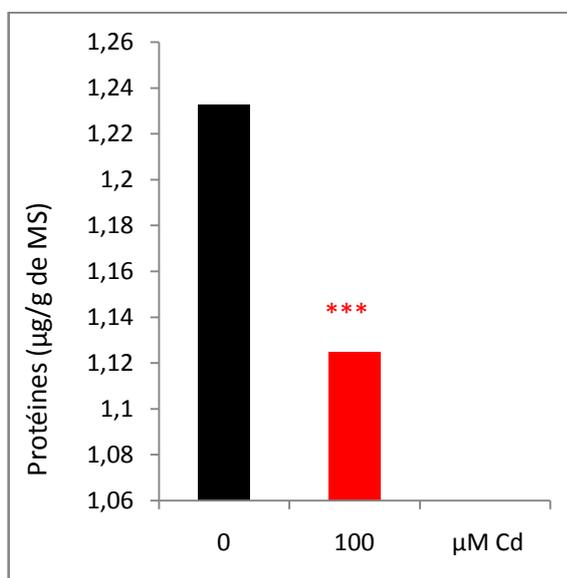


Fig.14b : Quantité de protéines totales des feuilles de blé traitées avec 100µM de Cd.

3.2.2. Effet des traitements simples et combinés sur les biomarqueurs

3.2.2.1. Dosages enzymatiques

B. Effet sur l'activité catalase

- Effet du Mg et Mg/Cd sur l'activité catalase

- Des racines

Les résultats obtenus concernant l'effet du Mg et Mg/Cd sur l'activité catalase chez les racines de blé sont reportés dans les figures 15a et 15b. On remarque une stimulation de l'activité catalase de façon proportionnelle aux différentes concentrations de Mg et de Mg/Cd qui atteint la valeur de 59×10^{-5} nmole/ μ gProt pour le traitement simple (50 μ M) et 51×10^{-5} nmole/ μ gProt pour le traitement combiné (50/100 μ M).

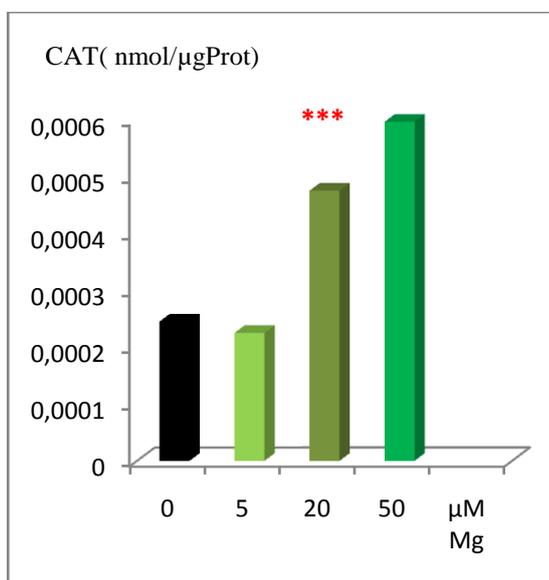


Fig.15a: L'activité CAT des racines de blé traitées par différentes [Mg].

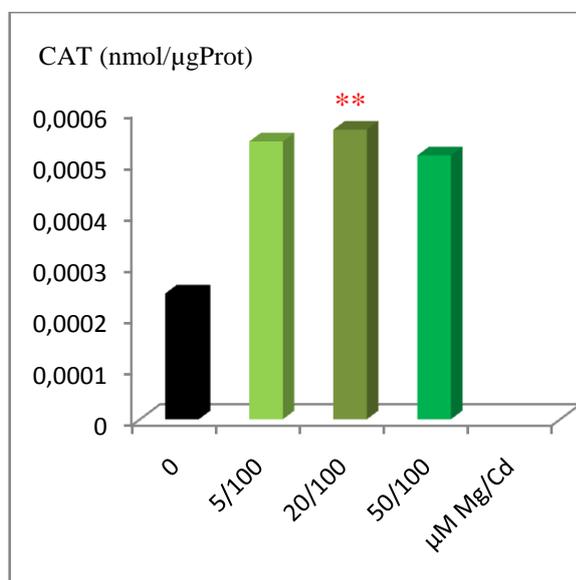


Fig.15b : L'activité CAT des racines de blé traitées par différentes [Mg/Cd].

- Des feuilles

Les figures 16a et 16b représentent l'activité CAT des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Mg et Mg/Cd. On remarque une induction de l'activité catalase qui diminue de manière dose dépendante mais reste supérieure au témoin. La plus forte valeur est obtenue à 5 μ M de traitement simple (Mg). Cependant le traitement combiné augmente l'activité catalase par rapport au témoin avec un pic (17×10^{-4} nmole/ μ gProt) à 20/100 μ M.

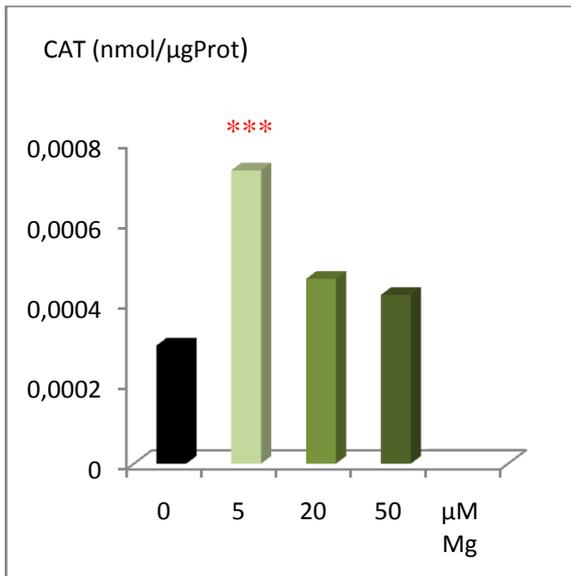


Fig.16 a : L'activité CAT des feuilles de blé traitées par différentes [Mg].

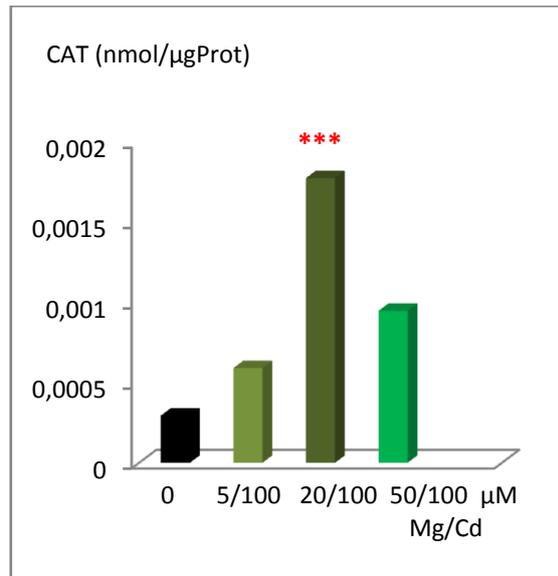


Fig.16b : L'activité CAT des feuilles de blé traitées par différentes [Mg/Cd].

- Effet du Ca et Ca/Cd sur l'activité catalase

• Chez les racines

Les figures 17a et 17b représentent l'activité catalase des racines de blé traitées par différentes concentrations de Ca et Ca/Cd. On constate une inhibition de l'activité catalase pour le traitement simple à l'exception de la concentration 5µM qui présente une induction très significative (3×10^{-3} nmole/µg de Prot) par rapport au témoin. Alors que les concentrations de 20 et 50µM de Ca combiné à 100µM de Cd augmentent l'activité catalase qui atteint successivement 29×10^{-5} et 8×10^{-4} nmole/µg de Prot.

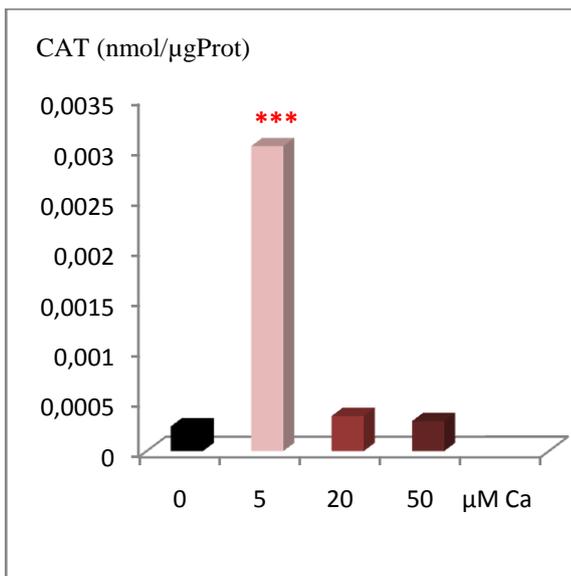


Fig.17a : L'activité CAT des racines de blé traitées par différentes [Ca].

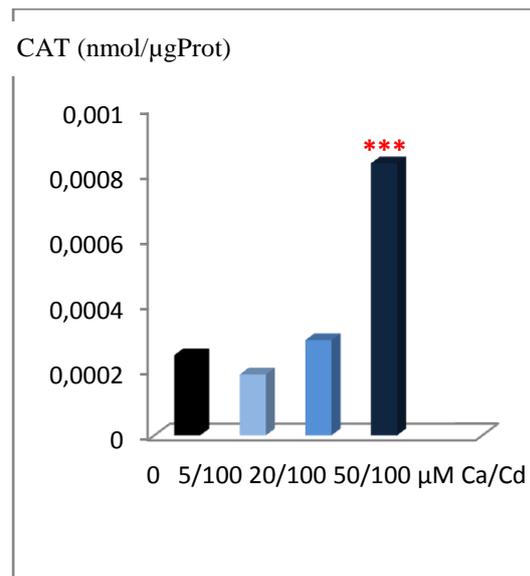


Fig.17b : L'activité CAT des racines de blé traitées par différentes [Ca/Cd].

Les figures 18a et 18b représentent l'activité catalase des feuilles de blé traitées avec des concentrations croissantes de Ca et de Ca/Cd. On y constate une diminution de l'activité catalase proportionnelle à l'augmentation des concentrations de Ca. La plus forte valeur (8×10^{-4} nmol/ μ g de Prot) est enregistrée à 5 μ M de Ca, alors que l'ajout du Cd inhibe cette même activité par rapport au témoin pour l'ensemble des concentrations.

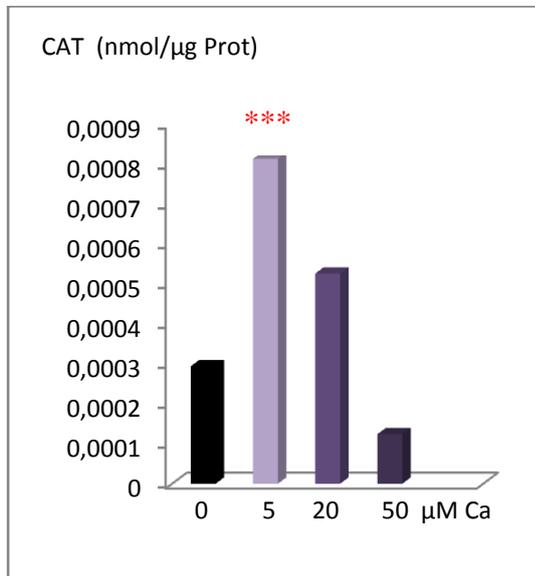


Fig.18a : l'activité CAT des feuilles de blé traitées par différentes [Ca].

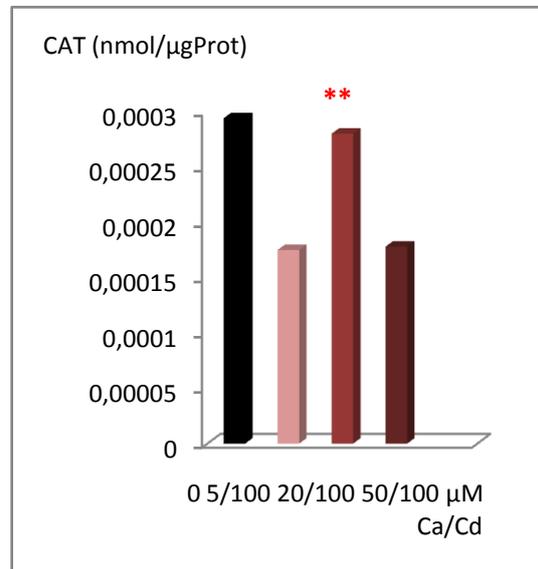


Fig.18b : L'activité CAT des feuilles de blé traitées par différentes [Ca/Cd].

- Effet du Cu et Cu/Cd sur l'activité catalase

• Des racines

En parallèle, l'effet des traitements simple et combiné sur l'activité catalase chez les racines est représenté dans les figures 19a et 19b.

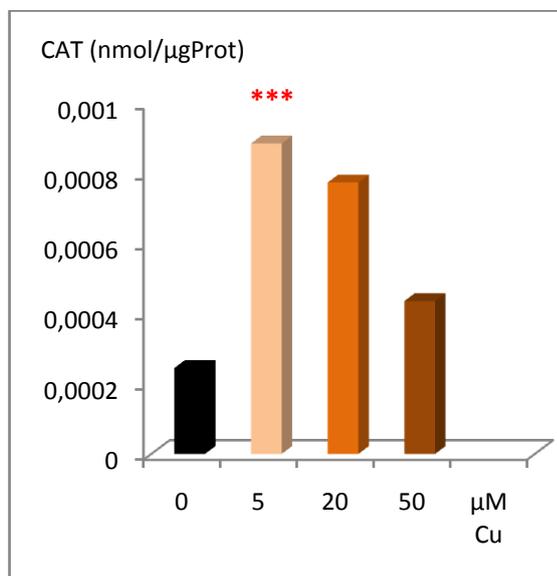


Fig.19a : L'activité CAT des racines de blé traitées par différentes [Cu].

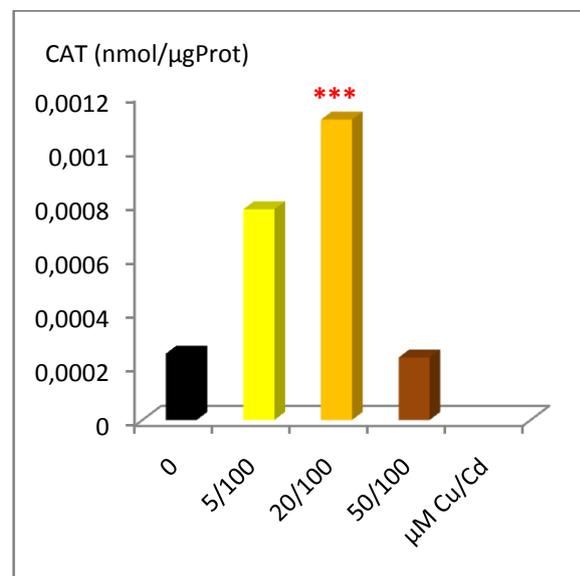


Fig.19b : L'activité CAT des racines de blé traitées par différentes [Cu/Cd].

On constate que l'activité catalase diminue significativement en fonction des concentrations croissantes de cuivre. Cependant le traitement combiné (Cu/Cd) révèle une augmentation de l'activité catalase (77×10^{-5} nmole/ μg de Prot : 5/100; 11×10^{-4} nmole/ μg de Prot : 20/100) à l'exception de la plus forte concentration (50/100 μM) qui présente une inhibition (\leq témoin).

- **Des feuilles**

Par contre l'activité catalase des feuilles de blé traitées par différentes concentrations croissantes de Cu ou de Cu/Cd (figures 20a et 20b) diminue considérablement en fonction de ces mêmes concentrations mais reste supérieures au témoin. La plus forte activité est observée à la plus faible concentration (5 μM : 9×10^{-4} nmole/ μg de Prot et 5/100 μM : 13×10^{-4} nmole/ μg de Prot) et pour les deux traitements (Cu et Cu/Cd).

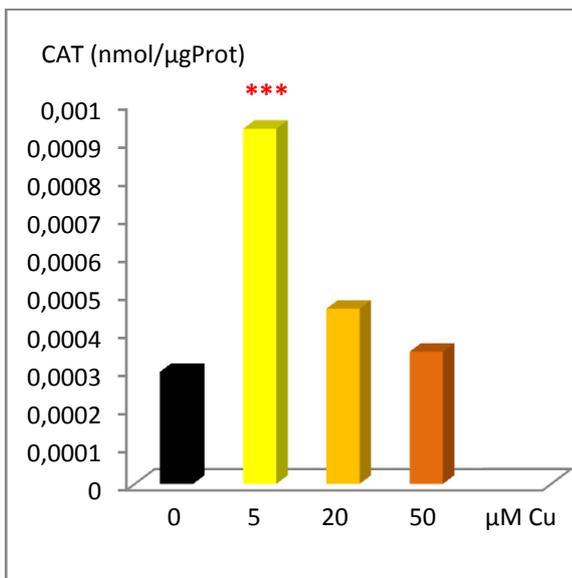


Fig.20a : L'activité CAT des feuilles de blé traitées par différentes [Cu].

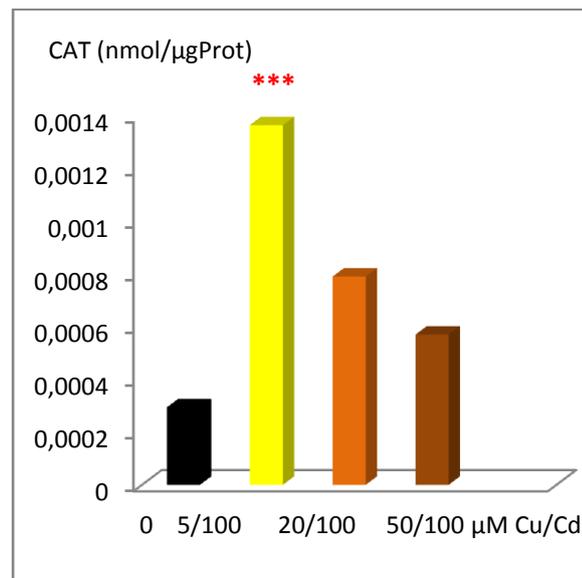


Fig.20b : L'activité CAT des feuilles de blé traitées par différentes [Cu/Cd].

- **Effet du Cd sur l'activité catalase**

- **Des racines**

Concernant l'effet du cadmium sur l'activité catalase des racines de blé traitées avec 100 μM de cadmium (figure 21), on constate une diminution de l'activité catalase (20×10^{-4} nmole/ μg de Prot) par rapport au témoin (24×10^{-4} nmole/ μg de Prot).

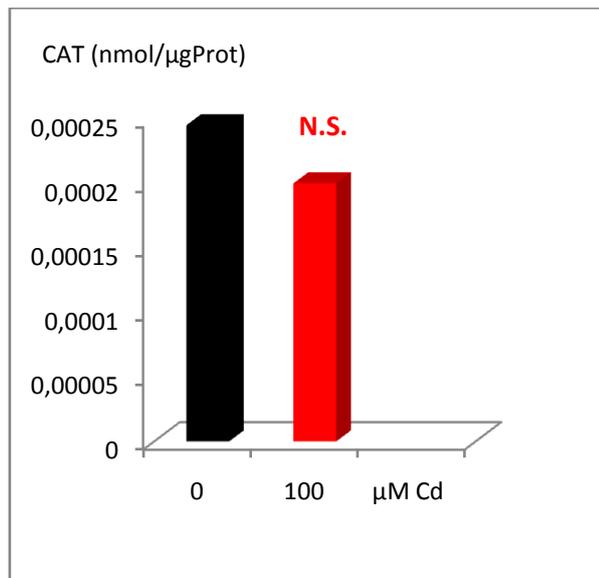


Fig. 21 : L'activité CAT des racines de blé traitées par 100μM de Cd.

- **Chez les feuilles**

Quant à l'activité catalase des feuilles de blé traitées par 100μM de Cd (figure 22), celle-ci est stimulé de façon très hautement significative (6×10^{-4} nmole/μg de Prot) qui est équivalente à deux fois la valeur du témoin (29×10^{-5} nmole/μg de Prot).

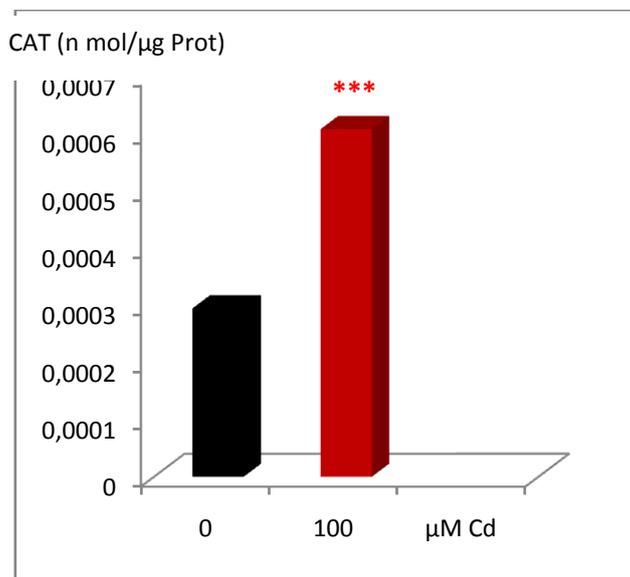


Fig.22 : L'activité CAT des feuilles de blé traitées par 100μM de Cd.

B .Effet sur l'activité GST

- Effet du Mg et du Mg/Cd sur l'activité GST

• Des racines

Les données obtenues après dosage de l'activité glutathion S transférase (GST) exprimées en n moles/min/ μ g de protéines mesurées au niveau des racines pour le traitement simple et combiné sont regroupées dans les figures 23a et 23b. Une induction de l'activité GST est constatée à 20 et 50 μ M de Mg alors que chez le traitement combiné une diminution de cette activité est décelée en fonction des concentrations croissantes de Mg mais reste supérieure au témoin.

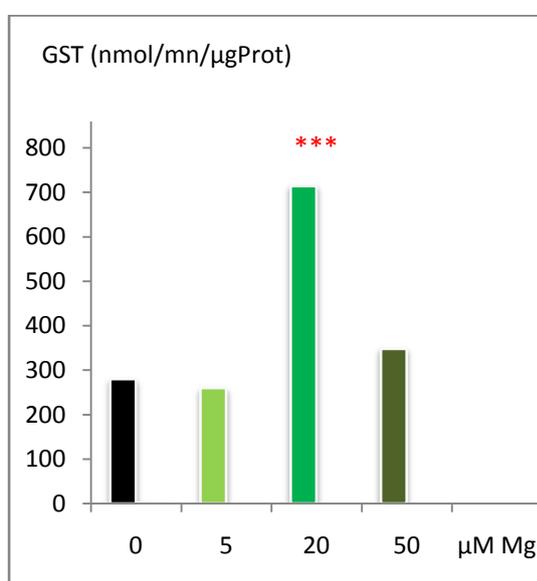


Fig.23a : L'activité GST des racines de blé traitées à différentes concentrations de Mg.

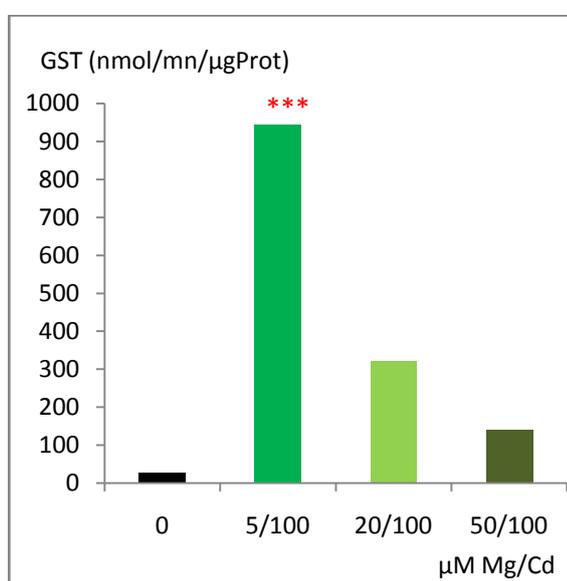


Fig.23b : L'activité GST des racines de blé traitées à différentes concentrations de Mg/Cd.

Les figures 24a et 24b représentent la mesure de l'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Mg et de Mg/Cd. Celles-ci indiquent une inhibition (< au témoin) de l'activité GST pour les deux types de traitements.

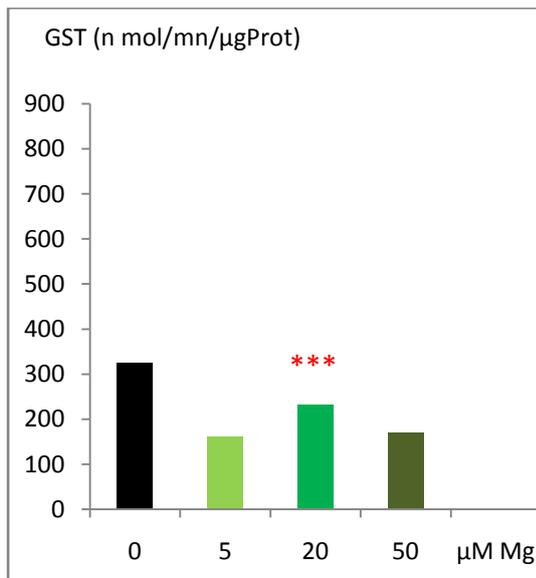


Fig.24a : L'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Mg.

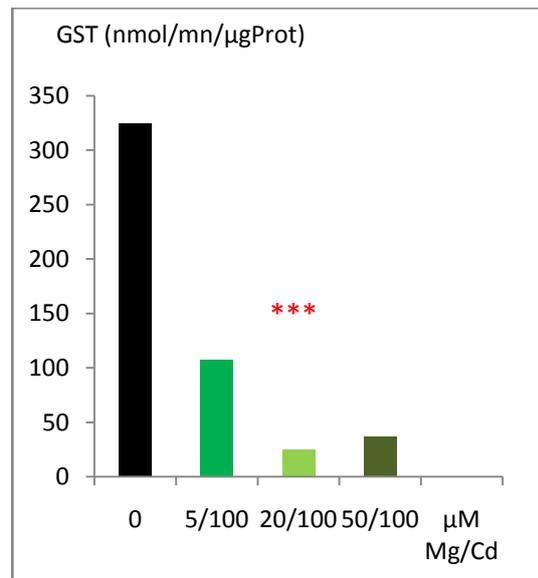


Fig.24b : L'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Mg/Cd.

- Effet du Ca et du Ca/Cd sur la GST

• Des racines

Les résultats obtenus sur les effets du Ca et du Ca/Cd sont illustrés dans les figures 25 a et 25b. On constate une diminution de la GST en fonctions des concentrations croissantes de Ca contrairement au traitement combiné où l'on constate une stimulation de la GST qui augmente de manière dose dépendante et atteint un maximum de 53nmole/mn/µg de Prot à 50/100µM de Ca/Cd.

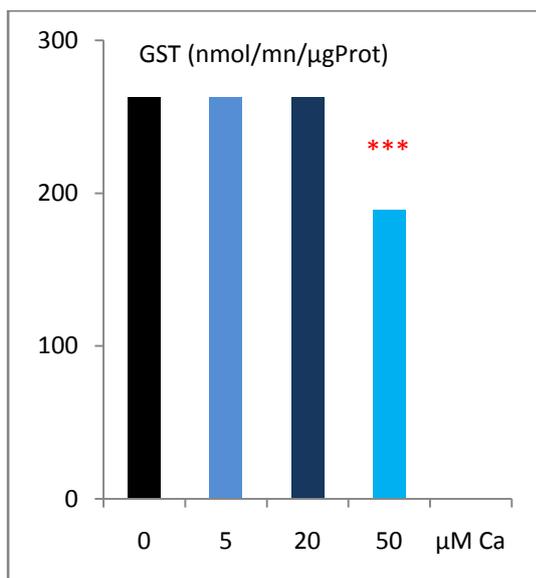


Fig.25a : L'activité GST des racines de blé traitées à différentes concentrations de Ca.

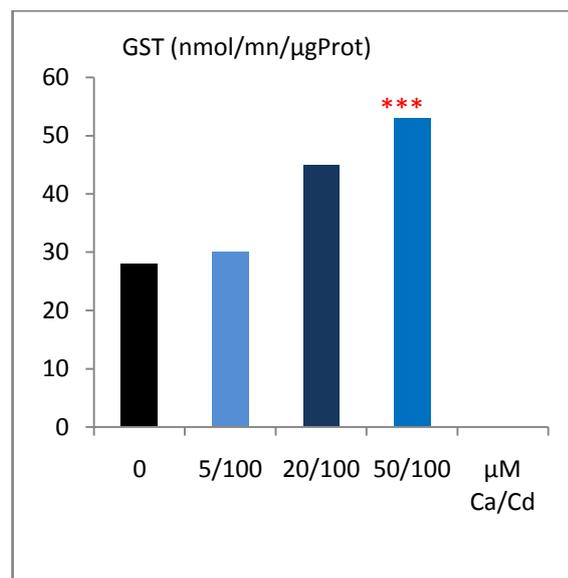


Fig.25b :L'activité GST des racines de blé traitées à différentes concentrations de Ca/Cd.

- **Des feuilles**

Les figures 26a et 26b regroupent l'ensemble des résultats issu du traitement avec du Ca et Ca/Cd chez les feuilles. On constate une inhibition de la GST pour le traitement simple (Ca) alors que traitement combiné induit une diminution de la GST en fonction des concentrations croissantes de Ca où la plus forte valeur (439nmole/mn/μg de Prot) est signalée à 5/100μM ainsi qu'une inhibition qui est constatée à 50/100μM .

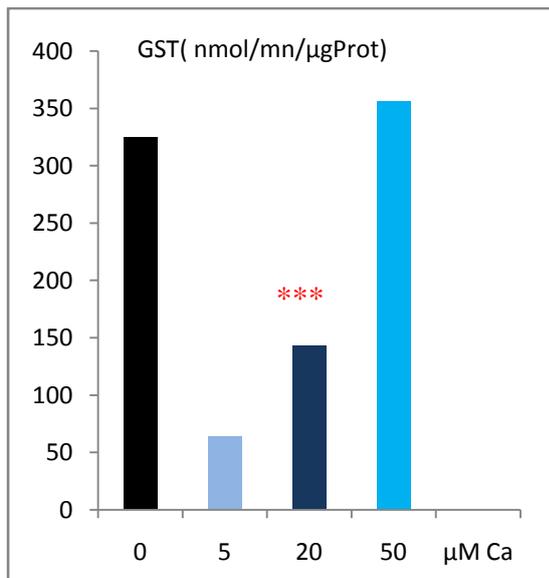


Fig.26a: L'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Ca.

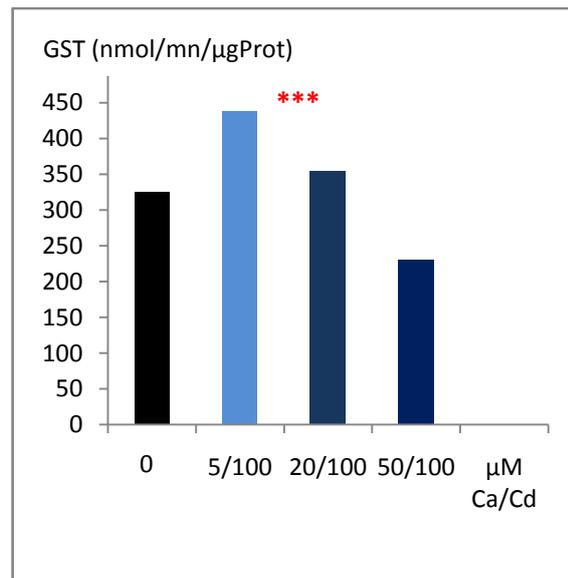


Fig.26b : L'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Ca/Cd.

- **Effet du Cu et Cu/Cd sur la GST**

- **Des racines**

Les résultats obtenus sur les effets du Cu et du Cu/Cd sont illustrés dans les figures 27a et 27b. On remarque une diminution de la GST en fonction des concentrations croissantes de Cu. Cependant seule la concentration de 5μM induit la GST. De même, le traitement combiné stimule l'activité GST à 20/100μM où elle atteint 75nmole/mn/μg de Prot. Il est à signalé que les deux autres concentrations (5/100 ; 50/100) inhibe cette activité.

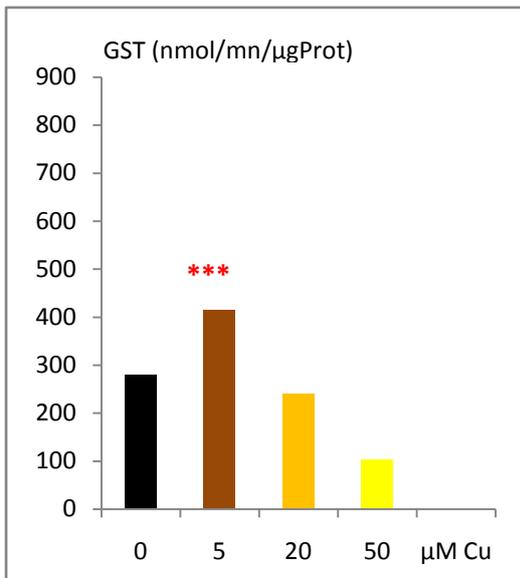


Fig.27a : L'activité GST des racines de blé traitées à différentes concentrations de Cu.

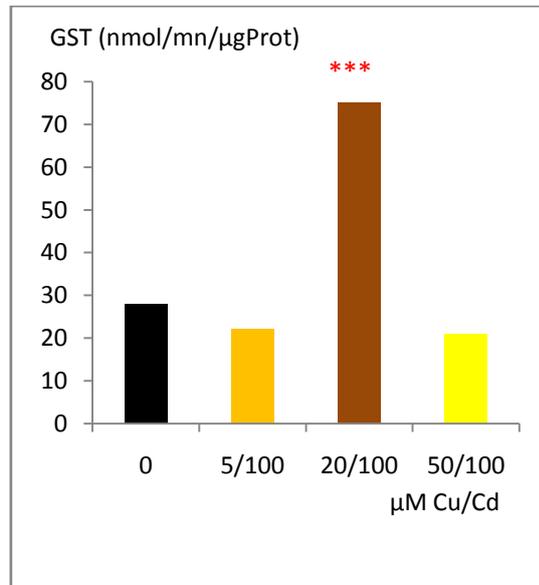


Fig.27b : L'activité GST des racines de blé traitées à différentes concentrations de Cu/Cd.

Les figures 28a et 28b illustrent l'activité GST dans les feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Cu et de Cu/Cd. On y constate une forte induction de la GST (50µM : 843nmole/mn/µg de Prot) en fonction des concentrations croissantes de Cu. Alors que la combinaison Cu/Cd inhibe cette activité (valeurs ≤ témoin).

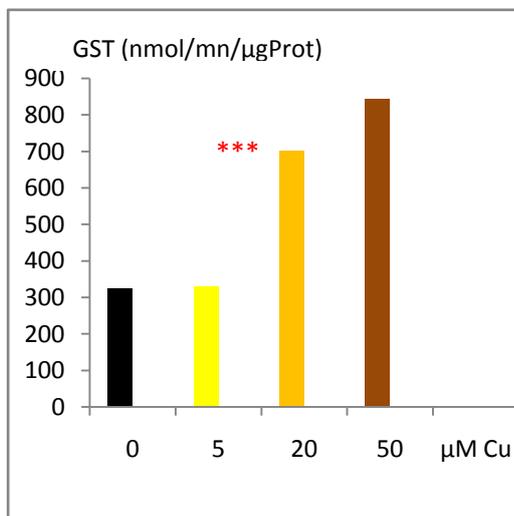


Fig.28a : L'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Cu.

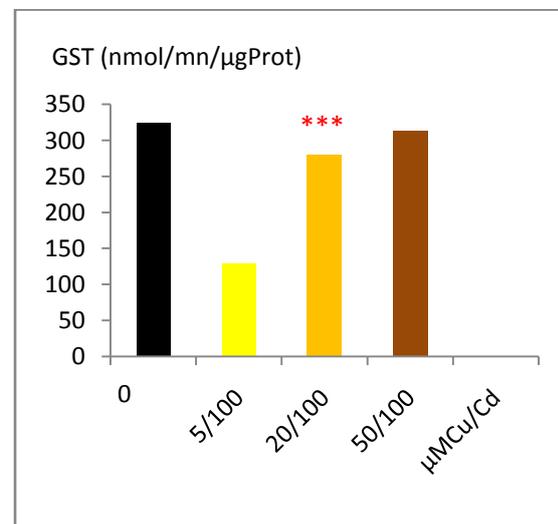


Fig.28b : L'activité GST des feuilles de blé traitées à différentes concentrations de Cu/Cd.

- **Effet du Cd sur la GST**

• **Des racines**

La figure 29 représente la mesure de l'activité GST dans les racines de blé traitées à 100 μ M de Cd. On constate une induction significative (430nmole/mn/ μ g de Prot) de cette activité par rapport au témoin.

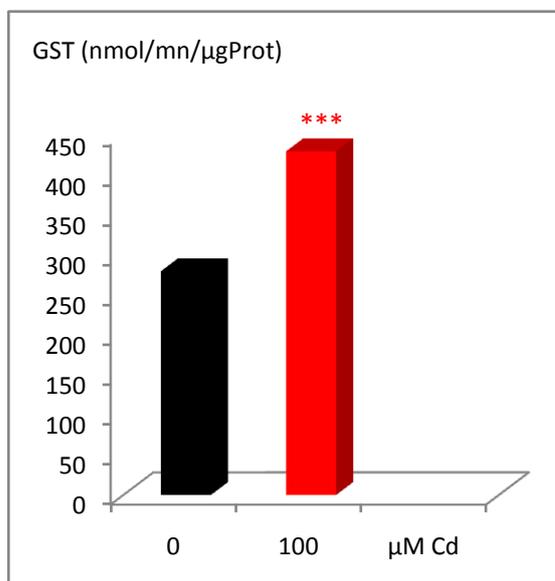


Fig. 29 : L'activité GST dans les racines de blé traitées à 100 μ M de Cd.

• **Des feuilles**

Enfin, la mesure de l'activité GST dans les feuilles de blé traitées à 100 μ M de Cd (figure 30) révèle une inhibition très hautement significative par rapport au témoin.

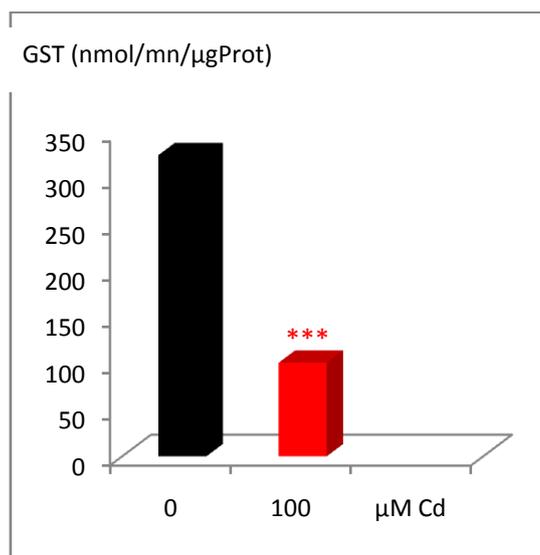


Fig. 30 : L'activité GST des feuilles de blé traitées à 100 μ M de Cd.

3.2.2.2. Dosage non Enzymatique : Le GSH

A. Effet du Mg et Mg/Cd sur le taux de GSH

- Des racines

Les résultats qui représentent la variation du taux de GSH exprimée en nmol/mgProt en fonction des différentes concentrations de Mg ou de Mg/Cd après 7jrs de traitement sont regroupés dans les figures 31a et 31b. On y constate que les concentrations croissantes de Mg ne sollicitent pas l'intervention de GSH. Cependant on a une induction du GSH à (5/100 et 20/100) μ M de Mg/Cd.

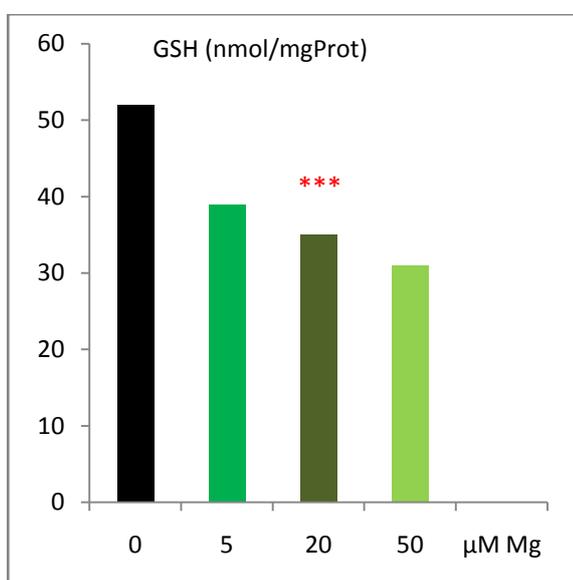


Fig. 31 a : Taux de GSH des racines de blé traitées par différentes concentrations de Mg.

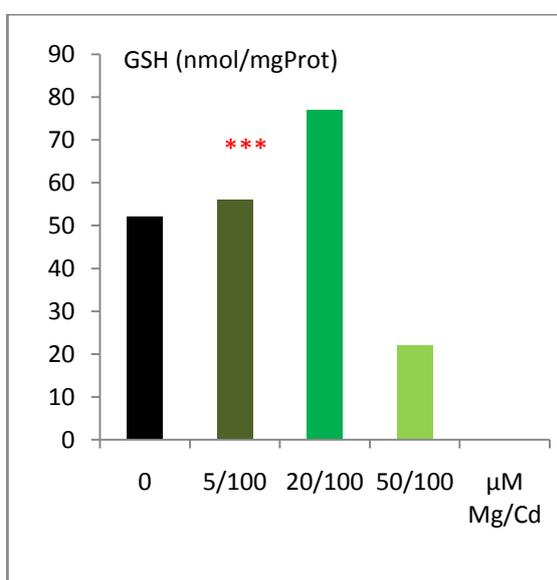


Fig. 31b : Taux de GSH des racines de blé traitées par différentes concentrations de Mg/Cd.

- Des feuilles

Les résultats obtenus quant à l'activité GSH dans les feuilles de blé traitées par des concentrations croissantes de Mg et de Mg/Cd sont illustrés dans les figures 32a et 32b. On constate une augmentation du GSH en fonction de l'augmentation des concentrations de Mg. Par contre, le traitement combiné Mg/Cd ne fait pas intervenir le GSH.

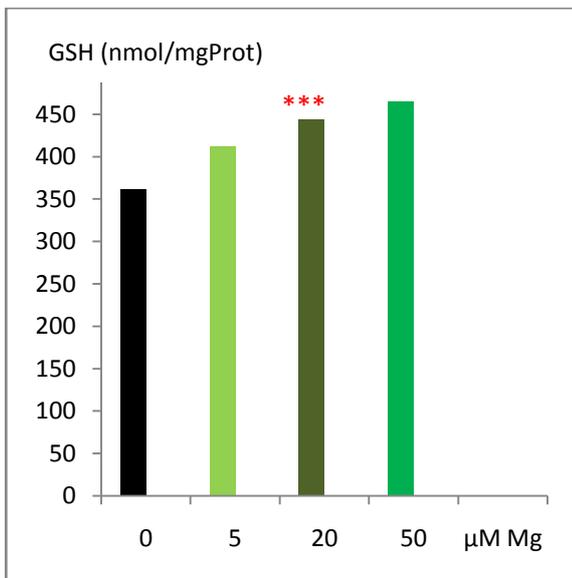


Fig.32 a: Taux de GSH des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Mg.

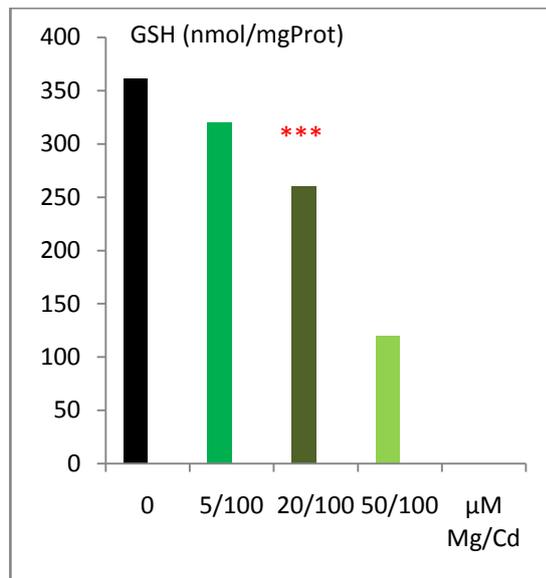


Fig.32b: Taux de GSH des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Mg/Cd.

B. Effet du Ca et du Ca/Cd sur le taux de GSH

- Des racines

Le taux de GSH dans les racines de blé traitées par des concentrations de Ca et de Ca/Cd est reportée dans les figures 33a et 33b; on y constate une stimulation du GSH à [5μM] de Ca et aucun effet avec le traitement combiné Ca/Cd.

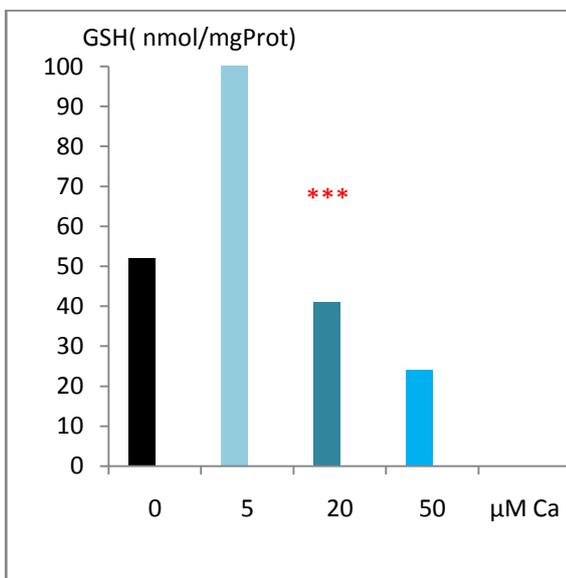


Fig. 33a : Taux de GSH des racines de blé traitées par différentes concentrations de Ca.

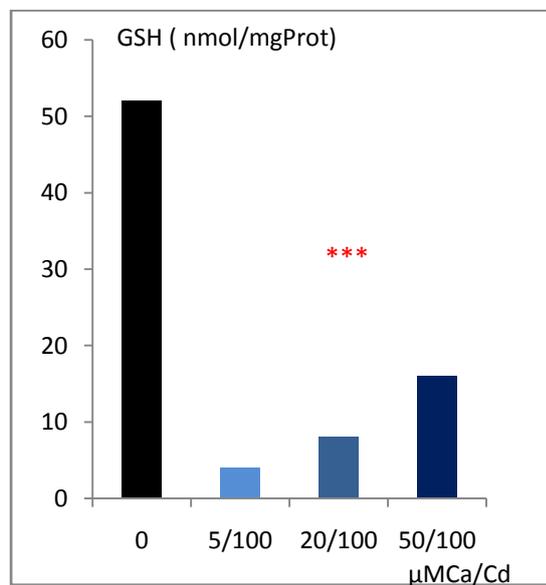


Fig. 33b : Taux de GSH des racines de blé traitées par différentes concentrations de Ca/Cd.

- **Des feuilles**

Les figures 34a et 34b et représentent le taux de GSH dans les feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Ca et de Ca/Cd. On remarque une induction du GSH à [20 et 50]µM de Ca ; alors que seule, la concentration de (50/100) µM de Ca/Cd active le GSH.

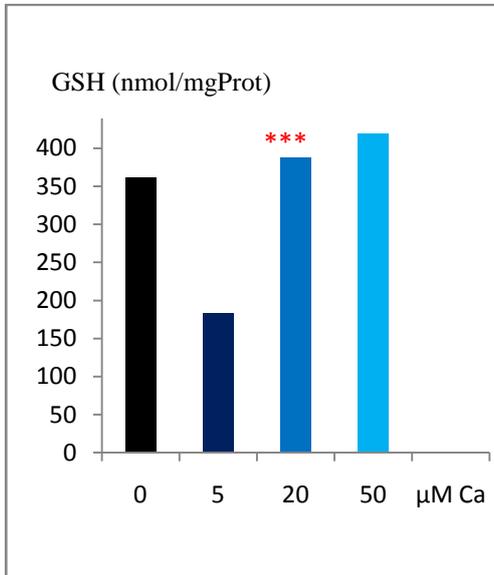


Fig. 34a : Taux de GSH des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Ca.

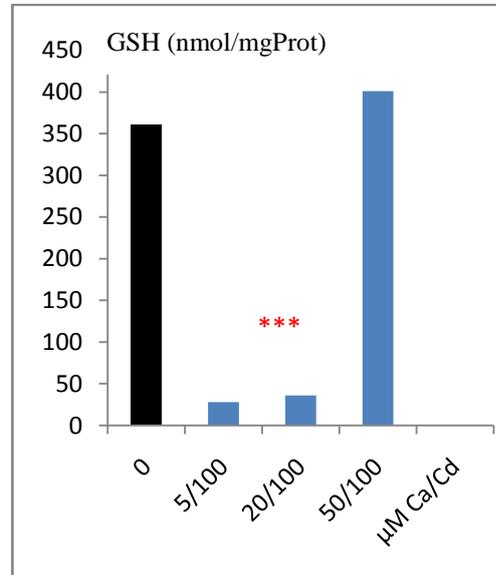


Fig. 34b : Taux de GSH des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Ca/Cd.

C. Effet du Cu et Cu/Cd sur le taux de GSH

- **Des racines**

Les figures 35a et 35b et représentent le taux de GSH des racines de blé traitées par des concentrations de Cu et de Cu/Cd. Une légère induction du GSH est constatée à la [5µM] de Cu. Toutes fois, les [5/100 et 20/100]µM de Cu/Cd augmente le GHS des racines de blé.

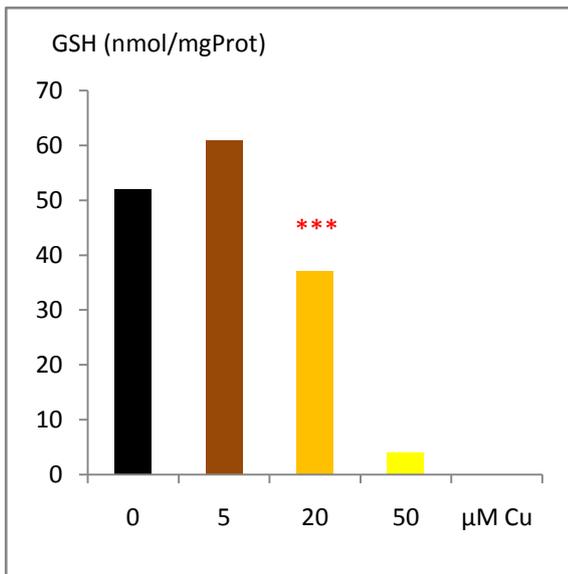


Fig.35a: Taux de GSH des racines de blé traitées par différentes concentrations de Cu.

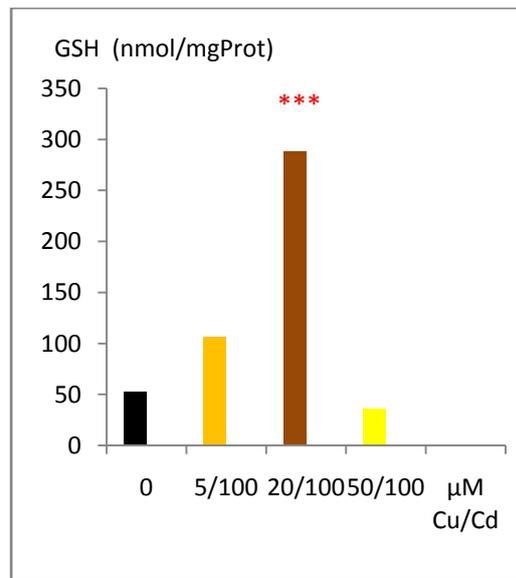


Fig. 35b : Taux de GSH des racines de blé traitées par différentes concentrations de Cu/Cd.

- **Des feuilles**

Aucun effet n'est constaté pour le traitement simple (figure 36a) alors que chez les traitements combinés (figure 36b), on a une induction à la plus forte concentration de (50/100) μM de Cu/Cd.

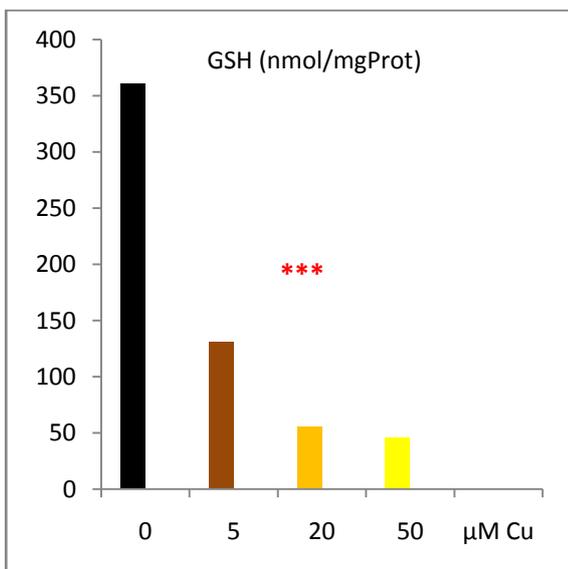


Fig. 36 a : Taux de GSH des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Cu.

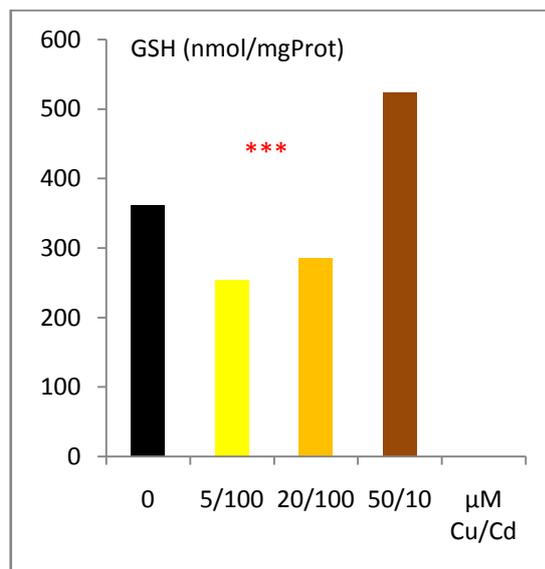


Fig. 36 b : Taux de GSH des feuilles de blé traitées par différentes concentrations de Cu/Cd.

D. Effet du Cd sur le taux de GSH

- Des racines

On constate (fig. 37) une baisse du taux de GSH chez les racines de graines de blé dur traitées avec 100 μ M de Cd (de 52 à 32nmol/mg Prot) par rapport aux témoins.

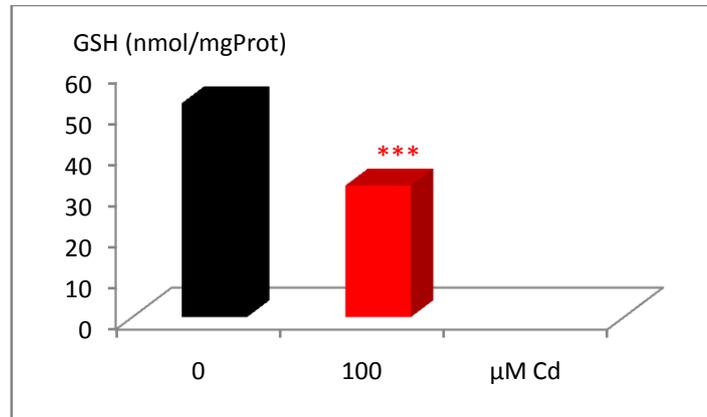


Fig. 37 : Effet du Cd sur le Taux de GSH des racines de blé dur.

La figure 38 illustre l'effet du Cd sur le taux de GSH des feuilles de graines de blé dur. En effet, on constate une augmentation de 418nmol/mgProt du GSH chez les feuilles ce qui représente pratiquement le double de celui des témoins.

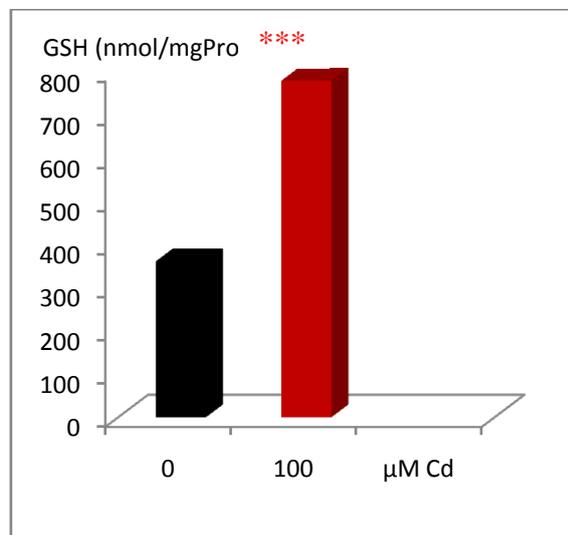


Fig.38 : Effet du Cd sur le taux de GSH des feuilles de blé dur.

Chapitre 4
Discussion Générale
Et
Conclusion

Discussion Générale

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la réponse biologique du modèle végétal à savoir le blé dur (*Triticum durum* Desf.) vis-à-vis d'un métal lourd « le cadmium » d'une part, connus pour son influence sur les paramètres morpho- métriques, physiologiques et biochimiques et certains oligoéléments d'autre part, indispensables au bon fonctionnement de certains cycles vitaux de la plante, associer ou non à la présence du chlorure de cadmium dans le milieu de culture.

Le premier paramètre mesuré est la germination, celle-ci représente un processus complexe considéré comme fortement affecté par la présence d'un excès de métaux lourds. De plus, le pourcentage de germination peut être considéré comme reflétant la qualité de l'environnement des plantes. Les résultats obtenus avec les effets des éléments (Mg, Cu, Ca) sur le pourcentage moyen de germination (PMG) montrent que ce dernier 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 ce qui est en total accord avec les travaux de Vernay *et al.*, (2009).

Parallèlement, le nombre moyen de racines, semble peu ou pas affecter par les traitements à base de (Cd et Cu), en effet plusieurs auteurs s'accordent à dire que ce paramètre est peu représentatif du stress (Salemaa et Uotila, 2001; Soughir, 2009).

Aussi, la vitesse moyenne des racines mesurée à partir de la longueur moyenne des racines a été calculée, celle-ci semble subir plusieurs variations en fonction des traitements appliqués. En effet, la croissance des plantules de blé dur exposées à ces traitements provoquent des altérations morphologiques qui sont les premières observations indicatrices de stress. Les résultats obtenus après traitement par le «Cd» seul montrent une augmentation de la longueur moyenne des racines et par conséquent de leur vitesse de croissance.

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, accompagnés d'une inhibition de la croissance pondérale des plantes (Djebali *et al.*, 2002; Ghnaya *et al.*, 2005; Zorrig *et al.*, 2010; Abdel Latef, 2013; Ahmad *et al.*, 2015; Asgher *et al.*, 2015). Cette inhibition serait peut être due aux interférences directes du Cd avec les enzymes hydrolytiques qui jouent un rôle important dans le transport des aliments vers les racines primaires et les tiges, ce qui retarderait également la croissance racinaire (Mondal, 2013 et Parvaiz *et al.*, 2016).

Cela s'expliquerait également par le fait que les graines de blé dur au premier contact avec le cadmium ralentissent leur croissance racinaire. Sharma et Kumar (2002), ont mis en évidence une diminution de la germination à des concentrations en cadmium au-delà de 100µM. Par ailleurs, nos résultats sont en parfait accord avec ceux réalisés sur le riz et le blé et qui montrent que la germination reste assez forte en présence de doses modérées de cadmium allant jusqu'à 200µM dans le milieu (Ahsan *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2007; He *et al.*, 2008. En effet, certaines graines montrent des capacités de germination fortes même en présence d'importantes doses de cadmium allant jusqu'à plusieurs mM.

Ernest (1998), vient appuyer ces observations et admet que la germination est un processus certes vulnérable au stress métallique, mais qui serait des plus résistants parmi les autres phases du développement de la plante. L'auteur a suggéré que les barrières tégumentaires des graines y empêcheraient une forte accumulation des métaux lourds. Par ailleurs, pour tout processus physiologique ou métabolique, ce sont les seuils critiques de phytotoxicité, définis en terme d'accumulation tissulaire qui déterminent la sensibilité aux métaux lourds. Ce qui contredit les travaux de Mihoub *et al.*, 2005 sur les petits pois et Soughir, 2009 sur la fève.

Dans notre étude la présence de Cd améliore légèrement la longueur des racines en fonction du temps. Ceci pourrait être expliqué par le fait que le traitement à un stade précoce n'agit pas négativement sur le métabolisme de la plante. Il est important de noter que le traitement appliqué (100µM de Cd) chez les plantules de blé ne reflète pas celles au contact des racines.

De même, les concentrations 5 et 20 μ M de Mg ainsi que 5 μ M de Cu stimulent la croissance racinaire puisque ces nutriments Mg et Cu sont indispensables à la croissance et au développement de la plante. Au-delà d'un certain seuil ces éléments deviennent toxiques et inhibent la croissance racinaire.

En effet, les concentrations de Cu (20 et 50 μ M) et de Mg (50 μ M) inhibent la croissance racinaire. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Cuypers, (2000) qui montre que les plantes concentrent d'abord le Cu dans les racines et ce sont les organes qui subissent en premier les impacts du Cu et qui sont les plus atteints (Paschke et Redente 2002). La diminution de la croissance des racines a pour conséquence celle de la surface de prélèvement de la plante et donc une diminution du prélèvement en eau et nutriments (Brun *et al.*, 2003; Chen, *et al.*, 2013).

Quand le cuivre est en excès dans les cellules des racines la concentration en H₂O₂ et les quantités de peroxydases impliquées dans la synthèse de la lignine augmentent (Lin *et al.*, 2005) cette augmentation peut engendrer une diminution de l'accessibilité du Cu aux cellules (Cuypers, 2000, Dos Santos *et al.*, 2004). Enfin l'ajout de Ca stimule la croissance racinaire durant les 96h du traitement. Il faut noter que le Ca est un élément majeur pour la croissance des cellules (Farago, 1994). Il joue un rôle dans l'activation et la régulation de plusieurs processus cellulaires (Couverso et Ferrandez 1996; Skorzynska-Polit *et al.*, 1998) et représente une molécule signale (deuxième messager) stimulant des activités enzymatiques (Yang et Poovaiah, 2002).

En parallèle, le traitement combiné (Mg/Cd) inhibe la croissance racinaire à 20 et 50 μ M de Mg. Sachant que ce dernier assure la distribution des métabolites (exp : Acides aminés et les carbohydrates), la formation de certaines métabolites est limitée par la présence de plusieurs éléments à la fois qui entrent en compétition telles les carbohydrates entraînant ainsi une diminution de la croissance racinaire et augmentent le risque de déficience des nutriments et des stress environnementaux (Cakmak et Kirkby 2008).

De même, le traitement combiné Cu/Cd (50/100 μ M) inhibe la croissance racinaire du fait que déjà le traitement simple (Mg, 50 μ M) affecte ce paramètre. Contrairement, l'ajout de concentrations élevées de Ca dans la solution du sol conduit à une réduction drastique et même à une neutralisation du stress « Cd » chez plusieurs espèces de Fabaceae (Ferreira *et al.*, 2013). Cela met en évidence l'importance et l'efficacité du Ca vis-à-vis de la toxicité du Cd.

Nos résultats viennent confirmer cette hypothèse à l'exception de 5 μ M de Ca/100 μ M Cd où on observe une inhibition de la croissance suite à l'effet drastique du Cd sachant que la présence de faible concentration de Ca stimule son accumulation dans les racines. Kopitke *et al.*, (2014) rapportent les mêmes observations où ils montrent que l'activité ionique calculée du Cd au niveau du site d'absorption de la racine est fortement diminuée par rapport à l'activité de Ca dans le milieu enrichi en Ca mais beaucoup moins dans le milieu à faible teneur en Ca, ainsi la faible disponibilité en Ca a amélioré l'absorption du Cd dans les racines.

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés aussi au taux de protéines totales. Ce paramètre subit des fluctuations en fonction des concentrations croissantes d'oligo-éléments et du type de traitements où on constate une augmentation de ce taux chez les racines de blé pour tous les traitements par rapport au témoin. Contrairement aux racines, la quantité de protéines totales chez les feuilles diminue en fonction des concentrations et du type de traitement à l'exception de 50 μ M de Mg, 50 μ M de Mg/100 μ M de Cd et toutes les combinaisons Ca/Cd. Il est à signaler que les traitements seuls Cu et Ca ne présentent aucune variation concernant ce paramètre.

Nos résultats sont en corrélation avec ceux obtenus par plusieurs chercheurs (Rai *et al.*, 1983; Kumar, 1991) ces derniers rapportent que le stress peut provoquer une baisse ou une augmentation des protéines totales. L'accumulation des protéines totales chez les plantes exposées au Cd semble être répandue (Zhao, 2011; Siddique *et al.*, 2012; El Beltagi et Mohamed, 2013).

En effet, les protéines jouent un rôle important dans la protection des plantes du stress abiotique et biotique (Siddique *et al.*, 2012; Ahmad *et al.*, 2015; Abdel Latef et Tran, 2016). Ceci s'expliquerait par le fait que la présence de xénobiotiques à l'intérieur des tissus stimule la synthèse protéique de nombreuses enzymes entre autres celles intervenant dans la détoxification ceci est en parfait accord avec les résultats de Shraddha Singh *et al.*, (2004) qui montrent que l'accumulation des protéines dans les racines et les feuilles de tomate est proportionnelle à celle du métal.

De mêmes certains chercheurs expliquent cette accumulation des protéines par leur capacité à équilibrer le potentiel hydrique de la plante et la capacité de préserver les enzymes de l'inhibition (Sharma et Dietz, 2006).

En effet, l'accumulation des protéines durant le stress métallique peut fournir des réserves en azote (N) qui seront utilisés ultérieurement pour contribuer à l'osmorégulation (Parvaiz *et al.*, 2016). D'autres travaux (Wollgieh et Newmann, 1995) reportent l'induction des protéines spécifiques au choc thermique sous l'effet d'un stress métallique qui montre leur rôle dans la réponse adaptative. Salt *et al.*, (2003), indiquent que l'exposition des plants à différentes concentrations de cadmium a tendance à provoquer une augmentation de la synthèse des protéines particulièrement des phytochélatines dont le rôle est la détoxification. Ces mêmes auteurs rapportent que près de 80% du xénobiotique est détoxifié par ce type de protéines.

En revanche, la diminution du taux de protéines enregistré dans notre étude suggère une altération du métabolisme basal. Partant du principe que tout type de stress provoque une libération de radicaux libres dans l'organisme (Aurousseau, 2002) une altération des composants cellulaires intervient alors lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement.

L'attaque des protéines cause de nombreuses modification allant de la simple oxydation d'un acide aminé jusqu'à la fragmentation des chaînes peptidiques d'où la diminution de leur taux de protéine (Moller *et al.*, 2007; Nizer, 2014).

Concernant les Effets du Cd, Mg et leurs combinaisons Mg/Cd sur les biomarqueurs de stress chez les feuilles et racines de blé dur, les résultats montrent que les traitements simples (Mg et Cd) inhibent le taux de GSH chez les racines de blé alors que ce même taux est stimulé chez les feuilles. Contrairement, le traitement combiné Mg/Cd stimule le taux de GSH chez les racines et l'inhibe chez les feuilles.

En général, la présence du cadmium stimule le taux de GSH chez les racines traitées par le cadmium ceci suggère la participation active de cet élément dans la détoxification des (ROS) espèces réactives à l'oxygène générés par le Cd (Asada et Takahashi, 1987).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Zhu *et al.*, 1999; Cao *et al.*, 2004 et Freeman *et al.*, 2004 et Sbartai *et al.*, 2012 chez lesquelles le niveau de GSH est rehaussé avec l'augmentation de la tolérance à l'accumulation du Cd pour des faibles concentrations, et aussi avec celles observées par Gallego *et al.*, 1996; Nagalakshmi et Prasad, 2001; Ducruix *et al.*, 2006, Sbartai *et al.*, 2012 où le niveau de GSH diminue en réponse au stress induit par les fortes concentrations de Cd.

La présence du Magnésium dans les racines ne sollicite pas l'intervention du GSH du fait que le Mg est un élément essentiel pour la croissance et le développement de la plante et sa mobilité dans le phloème (White and Broadley, 2008) dépend de plusieurs facteurs (Mikkelsen, 2010). Dans la plante, 20% seulement du Mg total sont utilisés pour la synthèse des chlorophylles alors que 80% sont présents sous différentes formes mobiles (Marschner, 2012).

En revanche sa translocation massive vers les feuilles, (sachant que le Mg est l'atome central de la molécule de chlorophylle et donc catalyseur de la photosynthèse), induit la production du GSH qui augmente en réponse aux concentrations croissantes de Mg prouvant ainsi l'existence d'un stress oxydatif sachant que le GSH est un thiol cellulaire prédominant et très réactif des systèmes piègeurs non-enzymatiques appartenant à la première ligne de défense antioxydante qui maintient l'équilibre redox intracellulaire et les antioxydants non-enzymatiques sous leur forme biologiquement active réduite.

Contrairement, le traitement combiné stimule la production du GSH pour les deux premières concentrations chez les racines et l'inhibe à la plus forte concentration alors qu'elle est inhibée quelque que soit la concentration appliquée chez les feuilles prouvant ainsi l'effet drastique du Cd associé au Mg.

Quant au traitement seul par le Cu, il inhibe totalement le glutathion chez les racines et les feuilles prouvant ainsi que le système en question est dépassé et remplacé par un système de défense antioxydant plus performant (enzymatique) en réponse au stress oxydatif généré par les concentrations croissantes de Cu. La même chose est observée pour le traitement combiné chez les feuilles.

Par contre, chez les racines le traitement combiné stimule la production du GSH. Effectivement la présence du cuivre en excès dans les cellules fait augmenter la concentration en H_2O_2 (Lin *et al.*, 2005) qui peut induire un stress oxydant. En plus, le Cu perturbe l'homéostasie des autres éléments de façons indirecte en modifiant la perméabilité et l'intégrité membranaire et de façon directe en modifiant les besoins de la plante ou entre en compétition avec d'autres éléments (Cook *et al.*, 1997; Cuypers, 2000). Toutefois les valeurs obtenues chez les plantes traitées par la combinaison Cd/Ca à différentes concentrations sont inférieures à celles observées sous l'effet du Cd. Cependant la combinaison Cd/Ca nous a permis de mettre en évidence le rôle protecteur que jouent cet ion et son action dans la défense des cellules vis-à-vis du cadmium.

Ces résultats appuient ceux de Bernal et Ruvalcaba (1996) et Fellenberg (2000) qui stipulent que le Ca bloque l'absorption des métaux toxiques en entrant en compétition avec ces derniers au niveau des différents récepteurs cellulaires.

En effet, l'évaluation du stress oxydatif est généralement effectué par des changements dans les niveaux d'activités enzymatiques (CAT, SOD, etc ...) impliquées dans le système de défense antioxydant (Vazquez-Torres *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2016). La CAT constitue la première ligne de défense antioxydante, elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène.

Dans notre travail, la mesure de l'activité enzymatique CAT intervenant dans la détoxification montre que le traitement par le Cadmium inhibe cette activité chez les racines alors qu'une induction est observée chez les feuilles. Cela pourrait s'expliquer par le fait que dans ces conditions de stress il y a déclenchement des systèmes de détoxification qui pour la plupart sont formés d'enzymes dont la catalase.

L'induction de cette activité suite à l'installation d'un stress oxydatif engendré par la présence du Cd montre bien son rôle dans l'élimination de l'eau oxygénée (H_2O_2) formé suite à l'accumulation du Cd dans les racines de blé.

Ces observations mettent en évidence un phénomène de tolérance qui serait à l'origine de l'adaptation des plantes aux xénobiotiques (Cho *et al.*, 2000; Soughir, 2009 ; Foyer et Shigeoka, 2011; Sbartai *et al.*, 2012).

En parallèle le traitement par le Mg seul et la combinaison Mg/Cd stimulent l'activité catalase de manière dose dépendante chez les racines prouvant ainsi le déclenchement du système de défense de la plante en réponse au stress oxydant induit par les concentrations croissantes de Mg.

En revanche le traitement par le cuivre seule inhibe cette activité chez les racines et les feuilles de blé prouvant ainsi sa forte toxicité pour la cellule qui est levée par la présence du Cd qui rentre en compétition empêchant ainsi la pénétration et la translocation du Cd vers les feuilles.

Toutes fois, la présence de faibles concentrations de Ca chez les feuilles et racines de blé dur n'induit pas l'activation de la CAT (enzyme de détoxification) du fait que le Ca est un nutriment indispensable au développement de la plante et n'engendre pas de stress oxydatif.

Cependant, l'association Cd/Ca perturbe l'absorption racinaire où la présence de faibles concentrations de Ca stimule le passage du Cd d'où l'induction de la CAT alors que les fortes concentrations de Ca bloque l'absorption des métaux toxiques en entrant en compétition avec ces derniers au niveau des différents récepteurs cellulaires (Bernal et Ruvalcaba, 1996; Fellenberg, 2000; Kopittke *et al.*, 2014) et améliore la tolérance des plantes au Cd par l'amélioration du système antioxydant (El Beltagi et Mohamed, 2013; Parvaiz *et al.*, 2016). Ceci nous permet de mettre en évidence le rôle protecteur que joue cet ion et son action dans la défense des cellules vis-à-vis du cadmium.

Enfin, l'analyse biochimique de l'activité GST met en évidence une stimulation à différents traitements (Cd, Cd/Mg et Cd/Cu) traduisant un phénomène de résistance des cellules racinaires chez le blé, alors que le traitement au Ca seul, par sa nature en tant qu'oligoélément indispensable à différentes fonctions de la plante, n'induit pas de stress oxydant au niveau des racines d'où l'inhibition constatée (Sbartai *et al.*, 2012).

Nos résultats traduisent un phénomène de résistance aux métaux lourds, ce qui suggère que cette variabilité devrait être due en partie au degré selon lequel les organismes peuvent détoxifier ces métaux aux différents stades de leur cycle de vie.

Conclusion

En conclusion, l'ensemble des résultats obtenus dans notre travail comparé à ceux rapportés dans la littérature nous ont permis de mieux comprendre ce phénomène de pollution. Ainsi, Les effets de certains métaux considérés comme oligoéléments (Mg, Ca, Cu) indispensables au bon fonctionnement des cycles vitaux de la plante et de leurs combinaisons avec le cadmium chez le blé dur permettent de noter un certain nombre de points :

Le Cadmium affecte pratiquement tous les paramètres physiologiques du blé dur à l'exception de la phase de germination où il agit faiblement sur cette étape de développement et sur la croissance racinaire. L'action du Cd commence à un stade ultérieur en activant la synthèse de GSH et l'activité CAT. Il est ainsi à l'origine d'un déséquilibre homéostatique dû principalement à un stress oxydant se traduisant par l'induction d'une multitude d'enzymes intervenant pour la plupart dans la détoxification.

L'addition de l'ion calcium et/ou magnésium semble réduire plus au moins les effets observés en présence de cadmium. Ceci pourrait s'expliquer par une compétition importante entre les deux ions. L'ensemble des résultats obtenus nous a permis de suggérer une hypothèse relative au comportement des plants traités d'une part et par rapport aux concentrations utilisées d'autre part. En revanche l'ajout du cuivre à fortes concentrations associé au Cd augmente le degré du stress induit chez les plantules de blé.

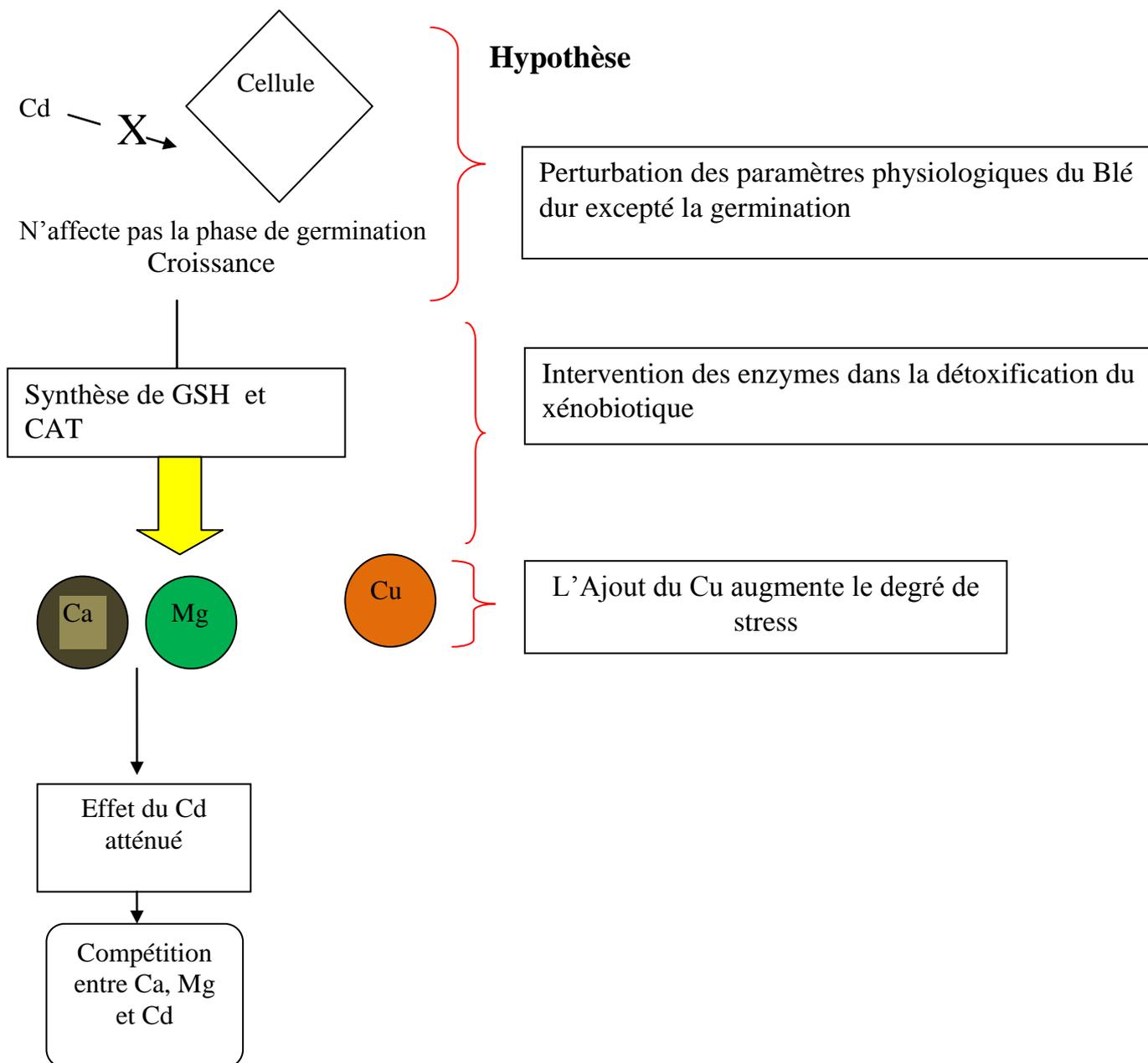


Figure 39 : Comportement des grains de blé dur face à un stress métallique associé à une nutrition minérale.

Perspectives

Il serait intéressant à l'avenir de pouvoir :

- Déterminer les taux de métaux lourds à savoir le Cuivre et le Cadmium dans les racines, les feuilles et le sol ainsi que leur localisation.
- Doser les activités des alpha et béta amylases qui interviennent lors du processus de germination ainsi que les phosphatases lors des traitements par les ETM.
- Approfondir les résultats à un niveau subcellulaire (mitochondries et chloroplastes).

Annexes

ANOVA à un facteur contrôlé : % de GER des traitements simples Mg à 48,72 et 96h

Analyse de variance pour %ger Mg

Source	DL	SC	CM	F	P
C148	11	7594	690	4,62	0,001
Erreur	24	3585	149		
Total	35	11179			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	41,11	12,62	(----*----)
2	3	37,78	23,41	(----*----)
3	3	23,56	3,36	(----*----)
4	3	17,78	3,85	(----*----)
5	3	40,00	20,00	(----*----)
6	3	50,11	3,17	(----*----)
7	3	62,22	15,40	(----*----)
8	3	43,22	10,00	(----*----)
9	3	56,67	3,34	(----*----)
10	3	50,16	3,17	(----*----)
11	3	71,67	10,41	(----*----)
12	3	38,44	13,50	(----*----)

-----+-----+-----+-----
Ecart-type groupé = 12,22 25 50 75

ANOVA à un facteur contrôlé : % de GER des traitements combinés Mg /Cd à 48,72 et 96h

Analyse de variance pour %Mg COM

Source	DL	SC	CM	F	P
C150	11	8540	776	4,43	0,001
Erreur	24	4203	175		
Total	35	12743			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	---+-----+-----+-----+---
1	3	17,78	3,85	(----*----)
2	3	10,11	3,17	(----*----)
3	3	27,00	20,00	(----*----)
4	3	13,33	0,00	(----*----)
5	3	40,00	20,00	(----*----)
6	3	40,00	20,00	(----*----)
7	3	40,00	20,00	(----*----)
8	3	26,78	6,67	(----*----)
9	3	56,67	3,34	(----*----)
10	3	53,44	20,17	(----*----)
11	3	53,67	1,15	(----*----)
12	3	24,00	3,61	(----*----)

---+-----+-----+-----+---
Ecart-type groupé = 13,23 0 25 50 75

ANOVA à un facteur contrôlé : % de GER du Ca traitements simples à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour %Ca Sim

Source	DL	SC	CM	F	P
C152	11	8838	803	4,91	0,001
Erreur	24	3930	164		
Total	35	12767			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	17,78	3,85	(----*----)
2	3	20,11	6,84	(----*----)
3	3	24,11	9,70	(----*----)
4	3	33,67	13,50	(----*----)
5	3	40,00	20,00	(----*----)
6	3	53,00	0,00	(----*----)
7	3	37,00	10,00	(----*----)
8	3	50,00	17,00	(----*----)
9	3	56,67	3,34	(----*----)
10	3	70,00	10,00	(----*----)
11	3	33,67	13,50	(----*----)
12	3	56,78	23,34	(----*----)
				-----+-----+-----+-----
Ecart-type groupé =		12,80		25 50 75

ANOVA à un facteur contrôlé : % de Ger du Ca/Cd à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour %Ca Com

Source	DL	SC	CM	F	P
C154	11	13813	1256	7,92	0,000
Erreur	24	3805	159		
Total	35	17618			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	----+-----+-----+-----+--
1	3	17,78	3,85	(----*----)
2	3	3,33	3,51	(----*----)
3	3	20,00	0,00	(----*----)
4	3	20,11	6,84	(----*----)
5	3	40,00	20,00	(----*----)
6	3	47,33	0,58	(----*----)
7	3	50,17	23,17	(----*----)
8	3	24,00	6,56	(----*----)
9	3	56,67	3,34	(----*----)
10	3	50,11	3,17	(----*----)
11	3	46,78	26,67	(----*----)
12	3	74,67	10,79	(----*----)
				----+-----+-----+-----+--
Ecart-type groupé =		12,59		0 30 60 90

ANOVA à un facteur contrôlé : % de Ger du Cu traitements simples à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour %Cu Sim

Source	DL	SC	CM	F	P
C156	11	8325	757	3,26	0,008
Erreur	24	5578	232		
Total	35	13903			

IC individuel à 95% pour la moyenne

Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	17,78	3,85	(-----*-----)
2	3	13,56	6,68	(-----*-----)
3	3	26,78	20,00	(-----*-----)
4	3	23,55	10,01	(-----*-----)
5	3	40,00	20,00	(-----*-----)
6	3	40,11	6,84	(-----*-----)
7	3	40,11	26,84	(-----*-----)
8	3	50,00	3,00	(-----*-----)
9	3	56,67	3,34	(-----*-----)
10	3	57,00	10,00	(-----*-----)
11	3	57,00	30,00	(-----*-----)
12	3	53,50	6,50	(-----*-----)

Ecart-type groupé = 15,24 0 25 50 75

ANOVA à un facteur contrôlé : % de Ger du Cu/Cd à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour %Cu Com

Source	DL	SC	CM	F	P
C158	11	11904	1082	7,28	0,000
Erreur	24	3566	149		
Total	35	15470			

IC individuel à 95% pour la moyenne

Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	17,78	3,85	(-----*-----)
2	3	40,44	13,17	(-----*-----)
3	3	26,78	13,34	(-----*-----)
4	3	6,78	6,67	(-----*-----)
5	3	40,00	20,00	(-----*-----)
6	3	50,00	10,00	(-----*-----)
7	3	60,00	20,00	(-----*-----)
8	3	56,67	3,51	(-----*-----)
9	3	56,67	3,34	(-----*-----)
10	3	54,00	6,56	(-----*-----)
11	3	68,00	20,07	(-----*-----)
12	3	61,00	1,73	(-----*-----)

Ecart-type groupé = 12,19 0 25 50 75

ANOVA à un facteur contrôlé : NBR Moy Rac Mg/Cd à 48, 72 et 96H

Analyse de variance pour NBR Mg/C

Source	DL	SC	CM	F	P
C98	8	31,966	3,996	30,72	0,000
Erreur	18	2,341	0,130		
Total	26	34,307			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	1,6667	0,5774	(--*--)
2	3	1,0000	0,0000	(--*--)
3	3	2,0000	0,0000	(--*--)
4	3	2,8300	0,1700	(--*--)
5	3	3,3533	0,3550	(--*--)
6	3	2,8733	0,1250	(--*--)
7	3	3,3333	0,5774	(--*--)
8	3	4,6667	0,5774	(--*--)
9	3	4,0000	0,0000	(--*--)

Ecart-type groupé = 0,3606 1,5 3,0 4,5

ANOVA à un facteur contrôlé : Nbr Moy Rac Ca à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour nbr Ca

Source	DL	SC	CM	F	P
C164	11	16,607	1,510	5,14	0,000
Erreur	24	7,048	0,294		
Total	35	23,655			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	3,0000	0,0000	(----*----)
2	3	3,0000	0,0000	(----*----)
3	3	3,0000	0,0000	(----*----)
4	3	3,0000	0,0000	(----*----)
5	3	3,1667	0,1528	(----*----)
6	3	3,0000	0,0000	(----*----)
7	3	2,8100	0,5597	(----*----)
8	3	3,7500	0,4330	(----*----)
9	3	5,3333	1,1547	(----*----)
10	3	3,6667	1,1547	(----*----)
11	3	3,6667	0,5774	(----*----)
12	3	4,0000	0,0000	(----*----)

Ecart-type groupé = 0,5419 2,4 3,6 4,8 6,0

ANOVA à un facteur contrôlé : Nbr Moy Rac Ca/Cd à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour nbr Ca/C

Source	DL	SC	CM	F	P
C166	11	59,277	5,389	29,92	0,000
Erreur	24	4,322	0,180		
Total	35	63,599			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	3,0000	0,0000	(--*--)
2	3	0,6667	0,5774	(--*--)
3	3	1,0000	0,0000	(--*--)
4	3	1,3333	0,5774	(--*--)
5	3	3,1667	0,1528	(--*--)
6	3	2,7833	0,2150	(--*--)
7	3	2,9933	0,2601	(--*--)
8	3	3,4033	0,1550	(--*--)
9	3	5,3333	1,1547	(--*--)
10	3	3,0000	0,0000	(--*--)
11	3	4,0000	0,0000	(--*--)
12	3	4,0000	0,0000	(--*--)

-----+-----+-----+-----
Ecart-type groupé = 0,4244 1,6 3,2 4,8

ANOVA à un facteur contrôlé : Nbr Moy Rac Cu à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour nbr Cu

Source	DL	SC	CM	F	P
C168	11	33,672	3,061	5,76	0,000
Erreur	24	12,755	0,531		
Total	35	46,427			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	3,0000	0,0000	(----*----)
2	3	1,3333	1,5275	(----*----)
3	3	2,3333	1,1547	(----*----)
4	3	2,3333	0,5774	(----*----)
5	3	3,1667	0,1528	(----*----)
6	3	3,0000	0,0000	(----*----)
7	3	3,4167	0,1443	(----*----)
8	3	3,0000	0,0000	(----*----)
9	3	5,3333	1,1547	(----*----)
10	3	3,6667	0,5774	(----*----)
11	3	3,3333	0,5774	(----*----)
12	3	4,3333	0,5774	(----*----)

-----+-----+-----+-----
Ecart-type groupé = 0,7290 1,6 3,2 4,8

ANOVA à un facteur contrôlé : Nbr Moy Rac Cu/Cd à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour nbr Cu/C

Source	DL	SC	CM	F	P
C170	11	59,778	5,434	15,23	0,000
Erreur	24	8,564	0,357		
Total	35	68,342			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	3,0000	0,0000	(---*---)
2	3	1,5000	0,5000	(---*---)
3	3	1,6667	1,1547	(---*---)
4	3	1,0000	1,0000	(---*---)
5	3	3,1667	0,1528	(---*---)
6	3	3,0533	0,0551	(---*---)
7	3	3,1233	0,0451	(---*---)
8	3	2,9400	0,0600	(---*---)
9	3	5,3333	1,1547	(---*---)
10	3	4,0000	0,0000	(---*---)
11	3	5,0000	0,0000	(---*---)
12	3	4,3333	0,5774	(---*---)

Ecart-type groupé = 0,5974 1,6 3,2 4,8

ANOVA à un facteur contrôlé : Nbr Moy Rac Cd à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour nbr Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C172	5	31,498	6,300	7,90	0,002
Erreur	12	9,571	0,798		
Total	17	41,069			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	+-----+-----+-----+-----
1	3	3,0000	0,0000	(----*----)
2	3	1,0000	1,7321	(----*----)
3	3	3,1667	0,1528	(----*----)
4	3	2,5433	0,6550	(----*----)
5	3	5,3333	1,1547	(----*----)
6	3	4,0000	0,0000	(----*----)

Ecart-type groupé = 0,8931 0,0 2,0 4,0 6,0

ANOVA à un facteur contrôlé : Lg Moy Rac des témoins à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour Lg 0

Source	DL	SC	CM	F	P
C82	2	7,6325	3,8162	108,97	0,000
Erreur	6	0,2101	0,0350		
Total	8	7,8426			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	0,5667	0,0577	(--*--)
2	3	1,6033	0,1950	(--*--)
3	3	2,8200	0,2524	(--*--)

Ecart-type groupé = 0,1871 0,80 1,60 2,40

ANOVA à un facteur contrôlé : Lg Moy Rac Mg à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour Lg Mg

Source	DL	SC	CM	F	P
C84	8	26,7839	3,3480	51,00	0,000
Erreur	18	1,1815	0,0656		
Total	26	27,9655			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	0,8433	0,1504	(--*--)
2	3	0,6000	0,1732	(--*--)
3	3	0,6000	0,1000	(--*--)
4	3	2,0600	0,2163	(--*--)
5	3	1,7000	0,3200	(--*--)
6	3	2,0333	0,5350	(--*--)
7	3	3,3767	0,1686	(--*--)
8	3	2,8633	0,1457	(--*--)
9	3	3,0133	0,2074	(--*--)

Ecart-type groupé = 0,2562 1,0 2,0 3,0

ANOVA à un facteur contrôlé : Lg Moy Rac Ca

Analyse de variance pour Lg Ca

Source	DL	SC	CM	F	P
C86	8	22,4285	2,8036	30,95	0,000
Erreur	18	1,6303	0,0906		
Total	26	24,0589			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+
1	3	0,8333	0,2517	(--*--)
2	3	0,9667	0,2887	(---*--)
3	3	0,9333	0,2517	(--*--)
4	3	2,0233	0,1150	(--*--)
5	3	1,9400	0,1200	(--*--)
6	3	1,9500	0,0500	(---*--)
7	3	3,2300	0,3897	(--*--)
8	3	2,7533	0,6369	(---*--)
9	3	3,3500	0,1323	(---*--)

Ecart-type groupé = 0,3010 1,0 2,0 3,0 4,0

ANOVA à un facteur contrôlé : Lg Moy Rac Cu à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour LgCu

Source	DL	SC	CM	F	P
C88	8	13,0144	1,6268	84,47	0,000
Erreur	18	0,3467	0,0193		
Total	26	13,3611			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+
1	3	0,6000	0,1000	(--*-)
2	3	0,6333	0,0577	(--*-)
3	3	0,5667	0,1155	(--*-)
4	3	1,4133	0,0651	(--*-)
5	3	1,4433	0,0513	(--*-)
6	3	1,3433	0,1750	(--*-)
7	3	2,5633	0,1185	(--*-)
8	3	2,0700	0,2330	(--*-)
9	3	2,1833	0,2021	(--*-)

Ecart-type groupé = 0,1388 0,70 1,40 2,10 2,80

ANOVA à un facteur contrôlé : Lg Moy Rac Cd à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour Lg Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C90	2	3,2294	1,6147	33,07	0,001
Erreur	6	0,2930	0,0488		
Total	8	3,5224			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	0,3667	0,3215	(---*---)
2	3	1,0633	0,1850	(---*---)
3	3	1,8333	0,0945	(---*---)

-----+-----+-----+-----
Ecart-type groupé = 0,2210 0,60 1,20 1,80

ANOVA à un facteur contrôlé : Lg Moy Rac Mg/Cd à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour Lg

Source	DL	SC	CM	F	P
Mg/Cd	8	16,7855	2,0982	42,25	0,000
Erreur	18	0,8939	0,0497		
Total	26	17,6794			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	0,5000	0,0000	(--*---)
2	3	0,5000	0,0000	(--*---)
3	3	0,5667	0,1155	(--*---)
4	3	1,2933	0,2650	(--*---)
5	3	1,7100	0,0100	(--*---)
6	3	1,6633	0,0850	(---*--)
7	3	2,2167	0,1762	(---*--)
8	3	2,5900	0,5651	(---*--)
9	3	2,4533	0,0757	(---*--)

-----+-----+-----+-----
Ecart-type groupé = 0,2229 0,80 1,60 2,40

ANOVA à un facteur contrôlé : Lg Moy Rac Ca/Cd à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour Lg Ca/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C94	8	18,5763	2,3220	35,47	0,000
Erreur	18	1,1782	0,0655		
Total	26	19,7545			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	0,4000	0,3464	(--*--)
2	3	0,5833	0,0289	(--*--)
3	3	0,6000	0,1000	(--*--)
4	3	1,3967	0,4104	(--*--)
5	3	1,4667	0,0252	(--*--)
6	3	1,5400	0,0300	(--*--)
7	3	1,7367	0,0723	(--*--)
8	3	2,4433	0,4477	(--*--)
9	3	3,0433	0,2875	(--*--)

Ecart-type groupé = 0,2558 1,0 2,0 3,0

ANOVA à un facteur contrôlé : Lg Moy Rac Cu/Cd à 48,72 et 96H

Analyse de variance pour Lg Cu/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C96	8	24,1665	3,0208	86,32	0,000
Erreur	18	0,6299	0,0350		
Total	26	24,7965			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	0,7033	0,0839	(-*--)
2	3	0,7333	0,1041	(-*--)
3	3	0,3333	0,2887	(-*--)
4	3	1,7500	0,2300	(--*--)
5	3	1,7033	0,1250	(-*--)
6	3	1,5200	0,1400	(-*--)
7	3	3,0900	0,1453	(-*--)
8	3	3,0267	0,3109	(-*--)
9	3	2,4300	0,0889	(-*--)

Ecart-type groupé = 0,1871 1,0 2,0 3,0

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales racines Mg

Analyse de variance pour C105

Source	DL	SC	CM	F	P
C106	3	0,1181795	0,0393932	3,9E+06	0,000
Erreur	8	0,0000001	0,0000000		
Total	11	0,1181796			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+		
1	3	0,414800	0,000100	*		
2	3	0,414800	0,000100	*		
3	3	0,294100	0,000100	*		
4	3	0,573500	0,000100	*		
-----+-----+-----+-----+						
Ecart-type groupé =		0,000100	0,320	0,400	0,480	0,560

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales racines Mg/Cd

Analyse de variance pour C113

Source	DL	SC	CM	F	P
C114	3	0,4448437	0,1482812	1,7E+04	0,000
Erreur	8	0,0000687	0,0000086		
Total	11	0,4449124			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+		
1	3	0,41480	0,00010	(*		
2	3	0,63997	0,00586	(*		
3	3	0,22433	0,00006	*		
4	3	0,71320	0,00010	(*		
-----+-----+-----+-----+						
Ecart-type groupé =		0,00293	0,30	0,45	0,60	0,75

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales Mg feuilles

Analyse de variance pour C119

Source	DL	SC	CM	F	P
C120	3	0,6548192	0,2182731	2,2E+07	0,000
Erreur	8	0,0000001	0,0000000		
Total	11	0,6548193			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+	
1	3	1,23280	0,00010	*	
2	3	0,72480	0,00010	*	
3	3	0,63280	0,00010	*	
4	3	0,97560	0,00010	*	
-----+-----+-----+-----+					
Ecart-type groupé =		0,00010	0,80	1,00	1,20

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales feuilles Mg/Cd

Analyse de variance pour C127

Source	DL	SC	CM	F	P
C128	3	0,5802957	0,1934319	7,5E+05	0,000
Erreur	8	0,0000021	0,0000003		
Total	11	0,5802977			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+-----					
1	3	1,23280	0,00010		*				
2	3	1,54700	0,00100					*	
3	3	0,95660	0,00010	*					
4	3	1,08670	0,00010		*				
-----+-----+-----+-----+-----									
Ecart-type groupé = 0,00051 0,96 1,12 1,28 1,44									

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales racines Ca

Analyse de variance pour C103

Source	DL	SC	CM	F	P
C104	3	0,8903591	0,2967864	3,0E+07	0,000
Erreur	8	0,0000001	0,0000000		
Total	11	0,8903592			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	----+-----+-----+-----+-----					
1	3	0,414800	0,000100		*				
2	3	0,121700	0,000100	*					
3	3	0,827500	0,000100					*	
4	3	0,700500	0,000100					*	
----+-----+-----+-----+-----									
Ecart-type groupé = 0,000100 0,20 0,40 0,60 0,80									

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales racines Ca/Cd

Analyse de variance pour C111

Source	DL	SC	CM	F	P
C112	3	15,31201	5,10400	5,1E+08	0,000
Erreur	8	0,00000	0,00000		
Total	11	15,31201			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	----+-----+-----+-----+-----					
1	3	0,41480	0,00010	*					
2	3	2,53540	0,00010				*		
3	3	3,27830	0,00010					*	
4	3	1,11850	0,00010	*					
----+-----+-----+-----+-----									
Ecart-type groupé = 0,00010 0,80 1,60 2,40 3,20									

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales feuilles Ca

Analyse de variance pour C117

Source	DL	SC	CM	F	P
C118	3	0,1465302	0,0488434	4,9E+06	0,000
Erreur	8	0,0000001	0,0000000		
Total	11	0,1465303			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType		
1	3	1,23280	0,00010		*
2	3	0,95660	0,00010	*	
3	3	1,03590	0,00010	*)	
4	3	0,96930	0,00010	*	

Ecart-type groupé = 0,00010 0,960 1,040 1,120 1,200

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales feuilles Ca/Cd

Analyse de variance pour C125

Source	DL	SC	CM	F	P
C126	3	1,679736	0,559912	5,6E+07	0,000
Erreur	8	0,000000	0,000000		
Total	11	1,679736			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType		
1	3	1,23280	0,00010	*	
2	3	1,48770	0,00010	*	
3	3	1,90360	0,00010		*
4	3	2,20530	0,00010		*

Ecart-type groupé = 0,00010 1,50 1,80 2,10

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales racines Cu

Analyse de variance pour C107

Source	DL	SC	CM	F	P
C108	3	11,64355	3,88118	3,9E+08	0,000
Erreur	8	0,00000	0,00000		
Total	11	11,64355			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType		
1	3	0,41480	0,00010	*	
2	3	0,26240	0,00010	*	
3	3	2,68780	0,00010		*
4	3	0,61780	0,00010	*	

Ecart-type groupé = 0,00010 0,70 1,40 2,10

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales racines Cu/Cd

Analyse de variance pour C115

Source	DL	SC	CM	F	P
C116	3	2,728382	0,909461	9,1E+07	0,000
Erreur	8	0,000000	0,000000		
Total	11	2,728382			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType				
1	3	0,41480	0,00010	*			
2	3	1,13860	0,00010		*		
3	3	0,56720	0,00010	*			
4	3	1,61480	0,00010			*	

-----+-----+-----+-----

Ecart-type groupé = 0,00010 0,70 1,05 1,40

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales feuilles Cu

Analyse de variance pour C121

Source	DL	SC	CM	F	P
C122	3	0,1848195	0,0616065	6,2E+06	0,000
Erreur	8	0,0000001	0,0000000		
Total	11	0,1848196			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType				
1	3	1,23280	0,00010		*		
2	3	1,17970	0,00010		*		
3	3	0,96070	0,00010	*			
4	3	1,28770	0,00010			*	

-----+-----+-----+-----+--

Ecart-type groupé = 0,00010 1,00 1,10 1,20 1,30

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales feuilles Cu/Cd

Analyse de variance pour C129

Source	DL	SC	CM	F	P
C130	3	1,151793	0,383931	3,8E+07	0,000
Erreur	8	0,000000	0,000000		
Total	11	1,151793			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType				
1	3	1,23280	0,00010			*	
2	3	0,39780	0,00010	*			
3	3	0,99780	0,00010			*	
4	3	0,74390	0,00010		*		

-----+-----+-----+-----+--

Ecart-type groupé = 0,00010 0,50 0,75 1,00 1,25

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales racines Cd

Analyse de variance pour C109

Source	DL	SC	CM	F	P
C110	1	0,0292741	0,0292741	2,9E+06	0,000
Erreur	4	0,0000000	0,0000000		
Total	5	0,0292742			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType		
1	3	0,414800	0,000100		*
2	3	0,275100	0,000100	*	

Ecart-type groupé = 0,000100 0,280 0,320 0,360 0,400

ANOVA à un facteur contrôlé : Protéines totales feuilles Cd

Analyse de variance pour C123

Source	DL	SC	CM	F	P
C124	1	0,0174960	0,0174960	1,7E+06	0,000
Erreur	4	0,0000000	0,0000000		
Total	5	0,0174960			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType		
1	3	1,23280	0,00010		*
2	3	1,12480	0,00010	*	

Ecart-type groupé = 0,00010 1,140 1,170 1,200 1,230

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Mg Rac traitement simple

Analyse de variance pour CAT Mg R

Source	DL	SC	CM	F	P
C30	3	0,0000076	0,0000025	9,8E+04	0,000
Erreur	8	0,0000000	0,0000000		
Total	11	0,0000076			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType		
1	3	2,45E-04	1,00E-06	*	
2	3	2,25E-03	1,00E-05		*)
3	3	4,75E-04	1,00E-06	*	
4	3	5,97E-04	1,00E-06	*	

Ecart-type groupé = 5,07E-06 0,00060 0,00120 0,00180

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Mg/Cd Rac

Analyse de variance pour CATMg/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C40	3	0,0000002	0,0000001	6,6E+04	0,000
Erreur	8	0,0000000	0,0000000		
Total	11	0,0000002			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType		
1	3	2,45E-04	1,00E-06	*)	
2	3	5,41E-04	1,00E-06		*
3	3	5,64E-04	1,00E-06		*)
4	3	5,14E-04	1,00E-06		*)

Ecart-type groupé = 1,00E-06 0,00030 0,00040 0,00050 0,00060

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Mg Feui traitement simple

Analyse de variance pour CAT Mg F

Source	DL	SC	CM	F	P
C44	3	0,0000003	0,0000001	1355,11	0,000
Erreur	8	0,0000000	0,0000000		
Total	11	0,0000003			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType		
1	3	2,94E-04	1,00E-06	(*	
2	3	7,30E-04	1,00E-05		(*
3	3	4,20E-04	1,00E-05	(*)	
4	3	4,40E-04	1,00E-05	(*)	

Ecart-type groupé = 8,67E-06 0,00030 0,00045 0,00060 0,00075

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Mg/Cd Feui

Analyse de variance pour CAT Mg/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C54	3	0,0000037	0,0000012	4,8E+04	0,000
Erreur	8	0,0000000	0,0000000		
Total	11	0,0000037			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType		
1	3	2,94E-04	1,00E-06	*	
2	3	5,90E-04	1,00E-05		*
3	3	1,77E-03	1,00E-06		*)
4	3	9,47E-04	1,00E-06		*

Ecart-type groupé = 5,07E-06 0,00050 0,00100 0,00150 0,00200

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Ca Rac traitement simple

Analyse de variance pour CAT Ca R

Source	DL	SC	CM	F	P
C34	3	0,0000169	0,0000056	5,6E+06	0,000
Erreur	8	0,0000000	0,0000000		
Total	11	0,0000169			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType		
1	3	2,45E-04	1,00E-06	*	
2	3	3,03E-03	1,00E-06		*
3	3	2,98E-04	1,00E-06	*	
4	3	3,12E-04	1,00E-06	*	

Ecart-type groupé = 1,00E-06 0,00080 0,00160 0,00240

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Ca/Cd Rac

Analyse de variance pour CAT Ca/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C42	3	0,0000008	0,0000003	2,7E+05	0,000
Erreur	8	0,0000000	0,0000000		
Total	11	0,0000008			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType		
1	3	2,45E-04	1,00E-06	*	
2	3	2,91E-04	1,00E-06	(*	
3	3	1,86E-04	1,00E-06	*	
4	3	8,32E-04	1,00E-06		*

Ecart-type groupé = 1,00E-06 0,00020 0,00040 0,00060 0,00080

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Ca Feu traitement simple

Analyse de variance pour CAT Ca F

Source	DL	SC	CM	F	P
C48	3	0,0000015	0,0000005	5,0E+05	0,000
Erreur	8	0,0000000	0,0000000		
Total	11	0,0000015			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType		
1	3	2,94E-04	1,00E-06	*	
2	3	8,13E-04	1,00E-06		*
3	3	1,24E-03	1,00E-06		*
4	3	5,26E-04	1,00E-06	(*	

Ecart-type groupé = 1,00E-06 0,00030 0,00060 0,00090 0,00120

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Ca/Cd Feui

Analyse de variance pour CAT Ca/C

Source	DL	SC	CM	F	P
C56	3	0,0000000	0,0000000	478,17	0,000
Erreur	8	0,0000000	0,0000000		
Total	11	0,0000000			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	2,94E-04	1,00E-06	(-*)
2	3	1,75E-04	1,00E-06	(-*)
3	3	2,80E-04	1,00E-05	(-*.)
4	3	1,78E-04	1,00E-06	(-*)

Ecart-type groupé = 5,07E-06 0,000200 0,000240 0,000280

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Cu Rac traitement simple

Analyse de variance pour CAT Cu Rac

Source	DL	SC	CM	F	P
C32	3	0,0000008	0,0000003	2,6E+05	0,000
Erreur	8	0,0000000	0,0000000		
Total	11	0,0000008			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	2,45E-04	1,00E-06	*
2	3	8,85E-04	1,00E-06	*
3	3	7,74E-04	1,00E-06	*
4	3	4,36E-04	1,00E-06	*

Ecart-type groupé = 1,00E-06 0,00040 0,00060 0,00080

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Cu/Cd Rac

Analyse de variance pour CAT Cu/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C38	3	0,0002577	0,0000859	5,2E+07	0,000
Erreur	8	0,0000000	0,0000000		
Total	11	0,0002577			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	2,45E-04	1,00E-06	*
2	3	7,79E-04	1,00E-06	*
3	3	1,11E-02	1,53E-06	*
4	3	2,31E-04	1,53E-06	*

Ecart-type groupé = 1,29E-06 0,0030 0,0060 0,0090

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Cu Feui traitement simple

Analyse de variance pour CAT Cu Feui

Source	DL	SC	CM	F	P
C46	3	0,0000008	0,0000003	3,4E+05	0,000
Erreur	8	0,0000000	0,0000000		
Total	11	0,0000008			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	2,94E-04	1,00E-06	*
2	3	9,32E-04	1,00E-06	*
3	3	3,47E-04	1,00E-06	*
4	3	4,60E-04	1,00E-07	*

Ecart-type groupé = 8,67E-07 0,00040 0,00060 0,00080 0,00100

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Cu/Cd Feui

Analyse de variance pour CATCu/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C52	3	0,0000019	0,0000006	1,2E+04	0,000
Erreur	8	0,0000000	0,0000000		
Total	11	0,0000019			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	2,94E-04	1,00E-06	(*
2	3	1,36E-03	1,00E-06	*)
3	3	7,90E-04	1,00E-05	*)
4	3	5,70E-04	1,00E-05	*

Ecart-type groupé = 7,11E-06 0,00030 0,00060 0,00090 0,00120

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Cd Rac

Analyse de variance pour CAT Cd R

Source	DL	SC	CM	F	P
C36	1	0,0000000	0,0000000	0,61	0,479
Erreur	4	0,0000000	0,0000000		
Total	5	0,0000000			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	2,45E-04	1,00E-06	(-----*-----)
2	3	2,00E-04	1,00E-04	(-----*-----)

Ecart-type groupé = 7,07E-05 0,000160 0,000240 0,000320

ANOVA à un facteur contrôlé : CAT Cd Feui

Analyse de variance pour CAT Cd F

Source	DL	SC	CM	F	P
C50	1	0,0000001	0,0000001	1,5E+05	0,000
Erreur	4	0,0000000	0,0000000		
Total	5	0,0000001			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	2,94E-04	1,00E-06	*)
2	3	6,07E-04	1,00E-06	*

Ecart-type groupé = 1,00E-06 0,00030 0,00040 0,00050 0,00060

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Rac Mg Traitements Simples

Analyse de variance pour GSTMg R ***

Source	DL	SC	CM	F	P
C60	3	405897,0	135299,0	1,4E+05	0,000
Erreur	8	8,0	1,0		
Total	11	405905,0			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	280,00	1,00	*
2	3	260,00	1,00	*
3	3	714,00	1,00	*
4	3	348,00	1,00	*

Ecart-type groupé = 1,00 300 450 600 750

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Mg/Cd Rac

Analyse de variance pour GST Mg/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C68	3	1504443	501481	5,0E+05	0,000
Erreur	8	8	1		
Total	11	1504451			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	28,00	1,00	*
2	3	944,00	1,00	*
3	3	323,00	1,00	*
4	3	139,00	1,00	*

Ecart-type groupé = 1,00 250 500 750

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Mg Feui traitement simple

Analyse de variance pour GST Mg fEUI

Source	DL	SC	CM	F	P
Mg F	3	48675,0	16225,0	553,12	0,000
Erreur	8	234,7	29,3		
Total	11	48909,7			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	325,00	1,00	(*)
2	3	325,00	1,00	(*)
3	3	230,00	1,00	(*)
4	3	176,67	10,69	(* -)

Ecart-type groupé = 5,42 200 250 300

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Mg/Cd Feui

Analyse de variance pour GST Mg/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C74	3	174177,0	58059,0	5,8E+04	0,000
Erreur	8	8,0	1,0		
Total	11	174185,0			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	325,00	1,00	(*
2	3	107,00	1,00	*
3	3	25,00	1,00	(*
4	3	37,00	1,00	*

Ecart-type groupé = 1,00 100 200 300

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Ca Rac traitement simple

Analyse de variance pour GST Ca R

Source	DL	SC	CM	F	P
C58	3	15963,00	5321,00	5321,00	0,000
Erreur	8	8,00	1,00		
Total	11	15971,00			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	280,00	1,00	*)
2	3	272,00	1,00	(*
3	3	189,00	1,00	*
4	3	265,00	1,00	*)

Ecart-type groupé = 1,00 210 240 270

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Ca/Cd Rac

Analyse de variance pour GST Ca/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C66	3	1302,00	434,00	434,00	0,000
Erreur	8	8,00	1,00		
Total	11	1310,00			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	28,000	1,000	(*-)
2	3	30,000	1,000	(-*)
3	3	45,000	1,000	(*.)
4	3	53,000	1,000	(*.)

Ecart-type groupé = 1,000 32,0 40,0 48,0

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Ca feu traitement simple

Analyse de variance pour GST Ca

Source	DL	SC	CM	F	P
feu	3	179310,0	59770,0	6,0E+04	0,000
Erreur	8	8,0	1,0		
Total	11	179318,0			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	325,00	1,00	(*
2	3	143,00	1,00	*
3	3	64,00	1,00	*
4	3	356,00	1,00	(*

Ecart-type groupé = 1,00 80 160 240 320

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Ca/Cd Feui

Analyse de variance pour GST Ca/Cd feui

Source	DL	SC	CM	F	P
C72	3	66858,00	22286,00	2,2E+04	0,000
Erreur	8	8,00	1,00		
Total	11	66866,00			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	325,00	1,00	*
2	3	439,00	1,00	*
3	3	354,00	1,00	*
4	3	230,00	1,00	*)

Ecart-type groupé = 1,00 240 300 360 420

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Cu Rac traitement simple

Analyse de variance pour GST Cu R

Source	DL	SC	CM	F	P
C62	3	147488,3	49162,8	4,9E+04	0,000
Erreur	8	8,0	1,0		
Total	11	147496,3			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	280,00	1,00	*
2	3	414,00	1,00	*)
3	3	240,00	1,00	*
4	3	103,00	1,00	*

Ecart-type groupé = 1,00 200 300 400

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Cu/Cd Rac

Analyse de variance pour GST Cu/C

Source	DL	SC	CM	F	P
C70	3	6044,25	2014,75	1511,06	0,000
Erreur	8	10,67	1,33		
Total	11	6054,92			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	28,000	1,000	(*
2	3	21,667	1,528	(*)
3	3	75,000	1,000	(*)
4	3	21,000	1,000	(*)

Ecart-type groupé = 1,155 32 48 64

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Cu feuille traitement simple

Analyse de variance pour GST Cu

Source	DL	SC	CM	F	P
feuille	3	624762,0	208254,0	2,1E+05	0,000
Erreur	8	8,0	1,0		
Total	11	624770,0			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	325,00	1,00	*
2	3	328,00	1,00	*
3	3	700,00	1,00	*
4	3	843,00	1,00	*

Ecart-type groupé = 1,00 450 600 750

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Cu/Cd Feui

Analyse de variance pour GST Cu/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C76	3	73262,25	24420,75	2,4E+04	0,000
Erreur	8	8,00	1,00		
Total	11	73270,25			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+
1	3	325,00	1,00	*
2	3	280,00	1,00	(*
3	3	130,00	1,00	(*
4	3	314,00	1,00	*)
-----+-----+-----+-----+				
Ecart-type groupé =			1,00	180 240 300

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Cd Rac

Analyse de variance pour GST Cd R

Source	DL	SC	CM	F	P
C64	1	33750,00	33750,00	3,4E+04	0,000
Erreur	4	4,00	1,00		
Total	5	33754,00			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+
1	3	280,00	1,00	*
2	3	430,00	1,00	*
-----+-----+-----+-----+				
Ecart-type groupé =			1,00	300 350 400 450

ANOVA à un facteur contrôlé : GST Cd Feui

Analyse de variance pour GST Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
F	1	75264,00	75264,00	7,5E+04	0,000
Erreur	4	4,00	1,00		
Total	5	75268,00			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+
1	3	325,00	1,00	*)
2	3	101,00	1,00	*)
-----+-----+-----+-----+				
Ecart-type groupé =			1,00	140 210 280 350

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Mg Rac traitement simple

Analyse de variance pour gsh R Mg

Source	DL	SC	CM	F	P
C4	3	746,25	248,75	248,75	0,000
Erreur	8	8,00	1,00		
Total	11	754,25			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	52,000	1,000	(-*)
2	3	39,000	1,000	(-*)
3	3	31,000	1,000	(-*)
4	3	35,000	1,000	(-*)
-----+-----+-----+-----				
Ecart-type groupé =		1,000	35,0	42,0 49,0

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Rac Mg/Cd

Analyse de variance pour gsh Mg/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C12	3	4622,25	1540,75	1540,75	0,000
Erreur	8	8,00	1,00		
Total	11	4630,25			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	52,000	1,000	(*)
2	3	56,000	1,000	(*)
3	3	77,000	1,000	(*)
4	3	22,000	1,000	(*)
-----+-----+-----+-----				
Ecart-type groupé =		1,000	32	48 64

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Feui Mg traitement simple

Analyse de variance pour gsh F Mg

Source	DL	SC	CM	F	P
C18	3	11883,00	3961,00	3961,00	0,000
Erreur	8	8,00	1,00		
Total	11	11891,00			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	361,00	1,00	(*)
2	3	412,00	1,00	(*)
3	3	444,00	1,00	(*)
4	3	381,00	1,00	(*)
-----+-----+-----+-----				
Ecart-type groupé =		1,00	375	400 425

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Feui Mg/Cd

Analyse de variance pour gsh F Mg/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C26	3	99872,25	33290,75	3,3E+04	0,000
Erreur	8	8,00	1,00		
Total	11	99880,25			

IC individuel à 95% pour la moyenne

Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	361,00	1,00	(*
2	3	320,00	1,00	*
3	3	260,00	1,00	*
4	3	120,00	1,00	*

Ecart-type groupé = 1,00 140 210 280 350

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Rac Ca traitement simple

Analyse de variance pour gsh Rac Ca

Source	DL	SC	CM	F	P
C2	3	9852,303	3284,101	4373,94	0,000
Erreur	8	6,007	0,751		
Total	11	9858,309			

IC individuel à 95% pour la moyenne

Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	52,000	1,000	(*
2	3	101,033	0,058	*)
3	3	24,000	1,000	(*
4	3	41,000	1,000	*)

Ecart-type groupé = 0,867 25 50 75 100

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Rac Ca/Cd

Analyse de variance pour ghs Ca/Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C10	3	4628,25	1542,75	1542,75	0,000
Erreur	8	8,00	1,00		
Total	11	4636,25			

IC individuel à 95% pour la moyenne

Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	
1	3	52,000	1,000	(*)
2	3	8,000	1,000	(*)
3	3	1,000	1,000	(*)
4	3	16,000	1,000	(*)

Ecart-type groupé = 1,000 0 15 30 45

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Ca feu traitement simple

Analyse de variance pour gsh F Ca

Source	DL	SC	CM	F	P
C16	3	100545,0	33515,0	3,4E+04	0,000
Erreur	8	8,0	1,0		
Total	11	100553,0			

IC individuel à 95% pour la moyenne

Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+
1	3	361,00	1,00	(*
2	3	183,00	1,00	*
3	3	419,00	1,00	*
4	3	387,00	1,00	*

Ecart-type groupé = 1,00 210 280 350 420

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Ca/Cd feu

Analyse de variance pour gsh F Ca

Source	DL	SC	CM	F	P
C24	3	367899,0	122633,0	1,2E+05	0,000
Erreur	8	8,0	1,0		
Total	11	367907,0			

IC individuel à 95% pour la moyenne

Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+
1	3	361,00	1,00	*
2	3	28,00	1,00	*
3	3	36,00	1,00	*
4	3	401,00	1,00	*)

Ecart-type groupé = 1,00 120 240 360

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Cu Rac traitement simple

Analyse de variance pour gsh R Cu

Source	DL	SC	CM	F	P
C6	3	5643,00	1881,00	1881,00	0,000
Erreur	8	8,00	1,00		
Total	11	5651,00			

IC individuel à 95% pour la moyenne

Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+
1	3	52,000	1,000	(*)
2	3	61,000	1,000	(*
3	3	4,000	1,000	(*)
4	3	37,000	1,000	(*

Ecart-type groupé = 1,000 20 40 60

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Cu/Cd Rac

Analyse de variance pour gsh Cu/C

Source	DL	SC	CM	F	P
C14	3	131556,0	43852,0	4,4E+04	0,000
Erreur	8	8,0	1,0		
Total	11	131564,0			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+		
1	3	52,00	1,00	*)		
2	3	52,00	1,00	*)		
3	3	288,00	1,00	*		
4	3	36,00	1,00	*		
-----+-----+-----+-----+						
Ecart-type groupé =		1,00	70	140	210	280

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Cu feui traitement simple

Analyse de variance pour gsh F Cu

Source	DL	SC	CM	F	P
C20	3	194132,3	64710,8	6,5E+04	0,000
Erreur	8	8,0	1,0		
Total	11	194140,3			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+		
1	3	361,00	1,00	*		
2	3	131,00	1,00	*		
3	3	46,00	1,00	(*		
4	3	55,00	1,00	(*		
-----+-----+-----+-----+						
Ecart-type groupé =		1,00	100	200	300	400

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Cu/Cd feui

Analyse de variance pour gsh F Cu

Source	DL	SC	CM	F	P
C28	3	131082,0	43694,0	4,4E+04	0,000
Erreur	8	8,0	1,0		
Total	11	131090,0			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----+	
1	3	361,00	1,00	*	
2	3	285,00	1,00	(*	
3	3	254,00	1,00	*	
4	3	524,00	1,00	(*	
-----+-----+-----+-----+					
Ecart-type groupé =		1,00	320	400	480

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Rac Cd traitement simple

Analyse de variance pour ghs R Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C8	1	600,00	600,00	600,00	0,000
Erreur	4	4,00	1,00		
Total	5	604,00			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-----+-----+-----+-----
1	3	52,000	1,000	(-*--)
2	3	32,000	1,000	(--*-)
-----+-----+-----+-----				
Ecart-type groupé =		1,000	35,0	42,0 49,0

ANOVA à un facteur contrôlé : GSH Cd feui

Analyse de variance pour gsh F Cd

Source	DL	SC	CM	F	P
C22	1	262086,0	262086,0	2,6E+05	0,000
Erreur	4	4,0	1,0		
Total	5	262090,0			

IC individuel à 95% pour la moyenne
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	EcarType	-+-----+-----+-----+-----
1	3	361,00	1,00	*
2	3	779,00	1,00	*
-+-----+-----+-----+-----				
Ecart-type groupé =		1,00	360	480 600 720

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

A

- AbdelLatef A.A., 2013.** Growth and some physiological activities of pepper (*Capsicum annuum* L.) in response to cadmium stress and mycorrhizal symbiosis. *J. Agri.Sci.Tech.* 15:1437-1448.
- Abdellatef A.A. et Tran L.S.P. 2016.** Impacts of priming with silicon on the growth and tolerance of maize plants to alkaline stress. *Front. Plant Sci.* 7: 243.
- Ahmad P., Nabi G. et Ashraf M., 2010.** Cadmium-induced oxidative damage in mustard *Brassica juncea* (L.) Czern. and Coss. plants can be alleviated by salicylic acid. *S. Afr.J. Bot.*
- Ahmad P., Sarwat M., Bhat N.A., Wani M.R., Kazi A.G. et Tran L.S., 2015.** Alleviation of cadmium toxicity in *Brassica juncea* L. (Czern.et Coss.)by calcium application involves various physiological and biochemical strategies. *PLoS ONE* 10: 1.
- Ahsan N., Lee D.G., Lee S.H., 2007.** Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. *Chemosphere.* 67:1182-1193.
- Alcántara E., Romera F.J., Cañete M. et De la Guardia M.D., 1994.** Effects of heavy metals on both induction and function of root Fe(III) reductase in Fe-deficient cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants. *J. Exp. Bot.* 45: 1893-1898.
- Aldrich A.P., Kistler D. et Sigg L., 2002.** Speciation of Cu and Zn in drainage water from agricultural soils. *Environmental Science and Technology,* 36: 4824-4830.
- Alloway B.J., 1995.** Soil processes and the behaviour of heavy metals. In: Alloway, B.J. Ed. *Heavy metals in soils.* Chapman & Hall, London, 11-35.
- Anatole-Monnier L., 2014.** Effets de la contamination cuprique des sols viticoles sur la sensibilité de la vigne à un cortège de Bio-Agresseurs. Thèse de Doctorat Université de Bordeaux, 200p.
- Angelova V.R., Ivanov A.S. et Braikov D.M., 1999.** Heavy metals (Pb, Cu, Zn and Cd) in the system soil- grapevine- grape. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 79: 713- 721.
- Antosiewicz D.M. et Henning J., 2004.** Over expression of LCT1 in tobacco enhances the protective action of calcium against calcium toxicity. *Environ. Pollut.,* 129: 237-245.
- Arduini I., Godbold D.L. et Onnis A., 1994.** Cadmium and copper change root growth and morphology of *Pinus pinea* and *Pinus pinaster* seedlings. *Physiol. Plant,* 92: 675-680.
- Arduini I., Masoni A., Mariotti M. et Ercoli L., 2004.** Low cadmium application increase miscanthus growth and cadmium translocation. *Environ. Exp. Bot.* 52: 89-100.
- Asada K., Takahashi M., 1987.** Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. In: Kyle, D.J., Osmond, C.J., Arntzen, C.J. Eds. *Photo inhibition: topics in Photosynthesis.* Elsevier, Amsterdam, 227p.
- Asada K., 1999.** The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 50: 601-639.
- Asgher M., Khan M.I.R., Anjum N.A. et Khan N.A., 2015.** Minimizing toxicity of cadmium in plants-role of plant growth regulators. *Protoplasma* 252: 399-413.

Asp H., Gussarsson M., Adalsteinson S. et Lensén P., 1994. Control of potassium influx in roots of birch (*Betula pendula*) seedlings exposed to cadmium. J. Exp. Bot. 45, 1823-1827.

Astolfi S., Zuchi S. et Passera C., 2004. Role of sulphur availability on cadmium-induced changes of nitrogen and sulphur metabolism in maize (*Zea mays* L.) leaves. J. Plant Physiol. 161: 795-802.

Aurousseau B., 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA Prod. 15: 67-82.

B

Bäckor M., Fahselt D. et Wu C.T., 2004. Free proline content is positively correlated with copper tolerance of the lichen photobiont *Trebouxia erici* (Chlorophyta). Plant Sci 167: 151-157.

Baize D. et Tercé M., 2002. Les éléments traces métalliques dans les sols. Approches fonctionnelles et spatiales. Inra Editions, Paris, 565 p.

Baker A.J.M. et Brooks R. R., 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements- a review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery 1: 81-126.

Baker D.E. et Senft J.P., 1995. Copper. Heavy metals in soils. Ed. Alloway, 2nd Edition, Blackie academic and professional, 368.

Banas D., Marin B., Skraber S., Chopin E.I.B. et Zanella A., 2010. Copper mobilization affected by weather conditions in a stormwater detention system receiving runoff waters from vineyard soils (Champagne, France). Environmental Pollution, 158 : 476-482.

Baryla A., Carrier P., Franck F., Coulomb C., Sahut C. et Havaux M., 2001. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. Planta 212: 696-709.

Benavides M.P., Gallego S.M. et Tomaro M.L., 2005. Cadmium toxicity in plants. Braz. J. Plant Physiol. 17: 21-34.

Berezky Z., Wang H.Y., Schubert V., Ganai M. et Bauer P., 2003. Differential regulation of Nramp and irt metal transporter genes in wild type and iron uptake mutants of tomato. J. Biol. Chem. 278: 24697-24704.

Berkelaar E. et Hale B.A., 2003. Accumulation of cadmium by durum wheat roots: bases for citrate-mediated exceptions to the free ion model. Environ Toxicol. Chem. 22: 1155-1161.

Bernal J., Ruvalcaba S., 1996. Pharmacological prevention of acute lead poisoning in *Paramecium* *Toxicology*. 108: 165-173.

Bert P.F., Bordenave L., Donnart M., Hevin C., Ollat N. et Decroocq S., 2013. Mapping genetic loci for tolerance to lime-induced iron deficiency chlorosis in grapevine root stocks (*Vitis* sp.). Theor. Appl. Genet., 126: 451-473.

Bingham F.T., Sposito G. et Strong J.E., 1986. The effect of sulfate on the availability of cadmium. Soil Sci. 141: 172-177.

- Bolwell G. P., Bindschedler L. V., Blee K. A., Butt V. S., Davies D. R., Gerdner S. L., Gerrish C. et Minibayeva F., 2002.** The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system. *J. Exp. Bot.* 53: 1367-1376.
- Boojar M.M.A. et Goodarzi F., 2007.** The copper tolerance strategies and the role of antioxidative enzymes in three plant species grown on copper mine. *Chemosphere* 67: 2138-2147.
- Bose J., Babourina O., Shabala S., Rengel Z., 2013.** Low-pH and aluminum resistance in *Arabidopsis* correlates with high cytosolic magnesium content and increased magnesium uptake by plant roots, *Plant Cell Physiol.* 54: 1093-1104.
- Boulila Zoghalmi L., Djebali W., Chaibi W., Ghorbel M.H., 2006.** Physiological and structural modifications induced by cadmium calcium interaction in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *C. R. Biol.* 329: 702-711.
- Bourelle P.H. et Berthelin J., 1998.** Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion. Académie des Sciences, rapport 42, août 1998, Lavoisier Tec. et Doc. 440.
- Bradford M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Bravin M., 2008.** Processus rhizosphériques déterminant la biodisponibilité du cuivre pour le blé dur cultivé en sols à antécédent viticole. Thèse de doctorat du Centre International d'Etudes Supérieures en Sciences Agronomiques, Montpellier Sup Agro, 203 p.
- Briat J.F. et Lebrun M., 1999.** Plant responses to metal toxicity. *Compte rendu de l'Académie des Sciences, série III- Sciences de la vie.* 322, 1 : 43-54.
- Brooks R.R., Lee J. Jaffré T., 1974.** Some new Zealand and New Caledonian plant accumulators of Nickel. *Journal of ecology* 62: 493-499.
- Brun L.A., Maillet J., Richarte J., Herrmann P. et Remy J.C., 1998.** Relationships between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils. *Environmental Pollution.* 102 : 151-161.
- Brun L.A., Maillet J., Hinsinger P. et Pepin M., 2001.** Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Environmental Pollution.* 111: 293-302.
- Brun C., Guénoche A. et Jacq B., 2003.** Approach of the functional evolution of duplicated genes in *Saccharomyces cerevisiae* using a new classification method based on protein-protein interaction data. *J Struct Func Genom.* 3: 213.
- Cakmak I., et Horst W.J., 1991.** Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiol. Plant* 83, 463-468.
- Cakmak I., et Kirkby E.A., 2008.** Role of magnesium in carbon partitioning and alleviating photooxidative damage, *Physiol. Plant.* 133: 692-704.
- Cambrolle J., Garcia J.L., Ocete R., Figueroa M.E. et Cantos M., 2013.** Growth and photosynthetic responses to copper in wild grapevine. *Chemosphere*, 93: 294-301.

Cao, X., Ma L.Q., Tu C., 2004. Antioxydative reponses to arsenic in the arsenic hyperaccumulator Chinese brake fern environ. Pollut. 128: 317-325.

Cataldo D.A., McFadden K.M., Garland T.R. et Wildung R.E., 1988 Organic constituents and complexation of nickel(II), iron(III), cadmium(II) and potonium (IV) in soybean xylem exsudates. Plant Physiol 86: 734-739.

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

Chaignon V., Sanchez-Neira I., Herrmann P. Jaillard B. et Hinsinger P., 2003. Copper bioavailability and extractability as related to chemical properties of contaminated soils from a vine-growing area. Environmental pollution, 123: 229-238.

Chaoui A. et El Ferjani E., 2004. Impact of cadmium and copper excess on cell wall peroxidases in Pea stems. Pak J. Biol. Sci. 7: 902-904.

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

Chaoui A. et El Ferjani E., 2005. Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. C.R. Biol.328: 23-31.

Chen B.C., Ho P.C. et Juang K.W., 2013. Alleviation effects of magnesium on copper toxicity and accumulation in grapevine roots evaluated with biotic ligand models, Ecotoxicology 22: 174-183.

Chen L.Q., Guo Y.F., Yang L.M. et Wang Q.Q., 2007. SEC-ICP-MS and ESI-MS/MS for Analyzing In Vitro and In Vivo Cd- Phytochelatin Complexes in a Cd- Hyperaccumulator *Brassica chinensis*. J Anal Atom Spectrom 22: 1403-1408.

Chen Z. et Ma J., 2013. Magnesium transporters and their role in Al tolerance in plants, Plant Soil 368: 51-56.

Cho Y.W., Kim H.G., Park E.H., Fuchs J.A. et Lim C.J., 2000. Cloning, expression and regulation of *Schizosaccharomyces pombe* gene encoding thioltransferase. BBA. Gene Structure an

Cho U. H. et Seo N. H., 2005. Oxidative stress in Arabidopsis thaliana exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. In Lin R., Wang X., Luo Y., Du W., Guo H. et Yin D., 2007. Effects of soil cadmium on growth, oxidative stress and antioxidant system in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). Chemosphere 69: 89–98.

Cho U.H. et Seo N.H., 2005. Oxidative stress in Arabidopsis thaliana exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. Plant Sci. 168: 113-120.

Chopin E.I.B., Marin B., Mkoungafoko R., Rigaux A., Hopgood M.J., Delannoy E., Cancès B. et Laurain M., 2008. Factors affecting distribution and mobility of trace elements (Cu, Pb, Zn) in a perennial grapevine (*Vitis vinifera* L.) in the Champagne region of France. *Environmental Pollution*, 156 : 1092-1098.

Chou T.S., Chao Y.Y., Huang W.D., Hong C.Y. et Kao C.H., 2011. Effect of magnesium deficiency on antioxidant status and cadmium toxicity in rice seedlings, *J. Plant Physiol.* 168: 1021-1030.

Chugh L.K. Gupta V.K et Sawhney S.K., 1992. Effect of cadmium on enzymes of nitrogen metabolism in pea seedlings. *Phytochemistry* 31: 395-400.

Chuken U.J. et Young S.D., 2005. Plant screening of halophyte species for cadmium phytoremediation. *Z Naturforsch C* 60: 236-243.

Clemens S., Antosiewicz D.M., Ward J.M., Schachtman D.P. et Schroeder J.I., 1998. The plant cDNA LCT1 mediates the uptake of calcium and cadmium in yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 95: 12043-12048.

Clemens S., Kim E.J., Neumann D. et Schroeder J.I., 1999. Tolerance to toxic metals by a gene family of phytochelatin synthases from plants and yeast. *EMBO J.* 18: 3325-3333.

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

Clemens S., Palmgren M.G. et Krämer U., 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant Sci* 7: 309-315.

Clemens S., 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88: 1707-1719.

Clemens S., 2008. Phytoremédiation des sols d'un site de traitement du bois contaminés par le cuivre. Thèse de Doctorat de l'Université de Bordeaux 1. 299p.

Cobbett C. et Goldsbrough P. 2002. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53: 159-182.

Coïc Y. et Coppenet M., 1989. Les Oligoéléments en Agriculture et Elevage. Incidences sur la Nutrition Humaine. INRA, Paris, 136p.

Colangelo E.P. et Guerinot M.L., 2006. Put the metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 9: 322-330.

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

Costa G. et Morel J.L., 1994a. Efficiency of H⁺-ATPase activity on cadmium uptake by four cultivars of lettuce. *J. Plant Nutr.* 17: 627-637.

Costa G. et Morel J.L., 1994b. Water relation, gaz exchange and amino acid content in Cd treated lettuce. *J Plant Physiol Biochem* 32: 561-570.

Costa G., Michaut J. et Morel J., 1994. Influence of cadmium on water relations and gas exchanges, in phosphorus deficient *Lupinus albus* L.. Plant Physiol Biochem 32:105-114.

Coullery P., 1997. Comportement de métaux lourds en agrosystèmes tempérés à faible taux de pollution. Thèse de Doctorat. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne.

Couverso, D.A., Fernandez, M.E., 1996. Ca⁺² activation of wheat Peroxidase: A possible physiological mechanism of control. Archives of biochemistry and Biophysics, 33 (1): 59-65.

Cowan J.A., 2002. Structural and catalytic chemistry of magnesium-dependent enzymes, Biometals 15: 225–235.

Cronquist A., 1981. An Integrated System of classification of Flowering Plants. Tront Cover. Columbia University Press. Science, 1262.

Curie C., Cassin G, Couch D., Divol F., Higuchi K., Le Jean M., Misson J., Schikora A., Czernic P. et Mari S., 2009. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. Ann Bot 103: 1-11.

Cutler J.M. et Rains D.W., 1974. Characterization of cadmium uptake by plant tissue. Plant Physiol 54: 67-71.

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

Cuypers A., Vangronsveld J. et Clijsters H., 2000. Biphasic effect of copper on the ascorbate glutathione pathway in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* seedlings during the early stages of metal assimilation. Physiologia Plantarum 110: 512-517.

Cuypers A., Vangronsveld J. et Clijsters H., 2002. Peroxidases in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris* copper and zinc phytotoxicity: a comparison. Journal of Plant Physiology 159: 869-876.

D

Dafré A.L., Sies H. et Akerboom T., 1996. Protein S-thiolation and regulation of microsomal glutathione transferase activity by the glutathione redox couple. Arch. Biochem. Biophys. 332: 288-294.

Dahmani-Müller H., 2000. Phytoréhabilitation des sols pollués par des éléments métalliques : facteurs et mécanismes de prélèvement dans les sols et d'accumulation par les espèces métalliques. Thèse de Doctorat, ENGREF, Paris.

Dahmani-Müller H., Van Oort F., Gelie B. et Balabane M. 2000. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. Environ Pollut 109: 1-8.

Dahmani-Müller H., Van Oort F. et Balabane M., 2001. Metal extraction by *Arabidopsis halleri* grown on an unpolluted soil amended with various metal-bearing solids: a pot experiment. Environ. Pollut. 114: 77-84.

- DalCorso G., Farinati S., Maistri S. et Furini A., 2008.** How plants cope with cadmium: staking all on metabolism and gene expression. *J. Integr. Plant Biol.* 50: 1268-1280.
- DalCorso G., Farinati S. et Furini A., 2010.** Regulatory networks of cadmium stress in plants. *Plant Signal Behav* 5: 663–667.
- DalCorso G., Manara A. et Furini A., 2013.** An overview of heavy metal challenge in plants: from roots to shoots. *Metallomics* 5 : 1117-1132.
- Das P., Samantaray S. et Rout G.R., 1997.** Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environ. Pollut.* 98: 29-36.
- Dat J., Vandenabeele S., Vranova E., Van Montagu M., Inze D. et Van Breusegem F., 2000.** Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell. Mol. Life Sci.* 57: 779-795.
- Davis R.D. et Beckett P.H.T., 1978.** Upper critical levels of toxic elements in plants. II. Critical levels of copper in young barley, wheat, rape, lettuce and ryegrass, and of nickel and zinc in young barley and ryegrass. *New Phytologist*, 80: 23-32.
- De La Rosa G., Peralta-Videa J.R., Montes M., Parsons J.G., Cano-Aguilera I. et Gardea-Torresdey J.L., 2004.** Cadmium uptake and translocation in tumbleweed (*Salsola kali*), a potential Cd-hyperaccumulator desert plant species: ICP/OES and XAS studies. *Chemosphere* 55: 1159-1168.
- Delas J., 1963.** La toxicité du cuivre accumulé dans les sols. *Agrochimica*, 7 : 258-288.
- Deneux-Mustin S., Roussel-Debet S., Mustin C., Henner P., Munier-Lamy C., Colle C., Berthelin J., Garnier-Laplace J. et Leyval C., 2003.** Mobilité et transfert racinaire des éléments en traces: influence des microorganismes du sol. *Technétium In: Tec&Doc. Lavoisier, Paris*, 233-240.
- Desbrosses-Fonrouge A.G., Voigt K., Schröder A., Arrivault S., Thomine S. et Krämer U., 2005.** *Arabidopsis thaliana* MTP1 is a Zn transporter in the vacuolar membrane which mediates Zn detoxification and drives leaf Zn accumulation. *FEBS Lett.*, 579: 4165-4174.
- Diaz I., Del Campillo M.C. et Cantos M., 2009.** Iron deficiency symptoms in grapevine as affected by the iron oxide and carbonate contents of model substrates. *Plant Soil*, 322, 293-302.
- Diaz-Ravina M., Calvo de Anta R. et Baath E., 2007.** Tolerance (PICT) of the bacterial communities to copper in vineyards soils from Spain. *J Environ Qual.*, 36 :1760–4.
- Dietz K.J., Baier M. et Krämer U. 1999.** Free radical and reactive oxygen species as mediators of heavy metals toxicity in plants. In: Prasad MNV, Hagemeyer J, eds. *Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems*. Berlin: Springer-Verlag, 73-97.
- Djebali W., Chaïbi W., Ghorbel M.H., 2002.** Croissance, activité peroxydasique et modifications structurales et ultrastructurales induites par le cadmium dans la racine de tomate (*Lycopersicon esculentum*), *Can.J. Bot.* 80: 942-953.

Djebali W., Zarrouk M., Brouquisse R., El Kahoui S., Limam F., Ghorbel M.H. et Chaibi W., 2005. Ultrastructure and lipid alterations induced by cadmium in tomato (*Lycopersicon esculentum*) chloroplast membranes. *Plant Biol. (Stuttg)* 7: 358-368.

Doke N., 1997. The oxidative burst: role in signal transduction and plant stress. In: Scandalios JG, ed. *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses*. Cold Spring Harbour: Cold Spring Harbour Laboratory Press, 785-813.

Dos Santos M., Raghevendran V., Kotter P., Olsson L. et Lielsen J., 2004. Manipulation of malic enzyme in *Saccharomyces cerevisiae* for increasing NADPH production capacity aerobically in different cellular compartments. *Met. Eng. Pub Med* 6: 352-363.

Doustaly F., Combes F., Fievet J.B., Berthet S., Hugouvieux V., Bastien O., Aranjuelo I., Leonhardt N., Rivasseau C., Carriere M., Vavasseur A., Renou J.P., Vandenbrouck Y. et Bourguignon J., 2014. Uranium perturbs signaling and iron uptake response in *Arabidopsis thaliana* roots. *Metallomics* 6: 809-821.

Duplay J., Semhi K., Errais E., Imfeld G., Babcsanyi I. et Perrone T., 2014. Copper, zinc lead and cadmium bioavailability and retention in vineyard soils (Rouffach, France): The impact of cultural practices. *Geoderma*, 230-231, 318-328.

Durcuix C., Junot C., Fiévert J.B., Villiers F., Ezan E., Bourguignon J., 2006. New insights into the regulation of phytochelation biosynthesis in *A. thaliana* cells from metabolite profiling analyses. *Biochimie* 88: 1733-1742.

E

Ebbs S. et Uchil S., 2008. Cadmium and zinc induced chlorosis in Indian mustard *Brassica juncea* L. involves preferential loss of chlorophyll b. *Photosynthetica* 46: 49-55.

Eckhardt U., Margues A.M. et Buckhout T.J., 2001. Two iron-regulated cation transporters from tomato complement metal uptake-deficient yeast mutant. *Plant Mol. Biol.*, 45: 437-448.

El Azzi D., Viers J., Guisresse M., Probst A., Aubert D., Caparros J., Charles F., Guizien K. et Probst J.L., 2013. Origin and fate of copper in a small Mediterranean vineyard catchment: New insights from combined chemical extraction and Cu65 isotopic composition. *Science of the Total Environment*, 463-464: 91-101.

El-Beltagi H.S. and Mohamed H.I., 2013. Alleviation of cadmium toxicity in *Pisum sativum* L. seedlings by calcium chloride. *Not. Bot. Horti. Agrobi.* 41: 157-168.

Eleftheriou E.P. et Karataglis S., 1989. Ultrastructural and morphological characteristics of cultivated wheat growing on copper polluted fields. *Botanica Acta*, 102: 134-140.

Elmayan T. et Tepfer M., 1994. Synthesis of a bifunctional metallothionein/beta-glucuronidase fusion protein in transgenic tobacco plants as a means of reducing leaf cadmium levels. *Plant J* 6: 433-440.

Ernest W.H.O., 1998. Effects of heavy metals in plants at the cellular and organismic level ecotoxicology. S. Gerrit, M. Bernd Eds. Bioaccumulation and biological Effects of Chemicals, John Wiley and Sons and Spektrum Akademischer Verlag, 587-620.

F

Fabrégat S., 2010. Les métaux lourds : une pollution de long terme : l'air à bout de souffle. www.actu-environnement.com.

Farago M., 1994. Plants and the chemical Elements. Biochemistry. Uptake, Tolerance and Toxicity. VCH. Verlagsgesellschaft, Weinheim 221-240.

Farrell M. et Jones D.L., 2010. Use of composts in the remediation of heavy metal contaminated soil. Journal of Hazardous Materials, 175: 575-582.

Fediuc E., Lips S.H. et Erdei L. 2005. Oacetylserine (thiol) lyase activity in Phragmites and Typha plants under cadmium and NaCl stress conditions and the involvement of ABA in the stress response. J Plant Physiol. 162: 865-872.

Fellenberg G., 2000. The chemistry of pollution. 3rd Ed. John Wiley and Sons. Ltd. Chichester. UK, 192p.

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

Fernandez-Calvino D., Arias-Estevez M., Diaz-Ravina M. et Baath E., 2012. Assessing the effects of Cu and pH on microorganisms in highly acidic vineyard soils. European Journal of Soil Science, 63, 571-578. Wheeler D.M., Power I.L., 1995. Comparison of plant uptake and plant toxicity of various ions in wheat. Plant and Soil 172:163-173.

Ferreira P.A.A., Lopes G., Bomfeti C.A., De Oliveira Longatti S.M., Soares C.R.F.D., Guilherme LRG, De Souza Moreira F.M., 2013. Leguminous plants nodulated by selected strains of *Cupriavidus necator* grow in heavy metal contaminated soils amended with calcium silicate. World J. of Micr. and Biotech. 29: 2055-2066.

Flores-Velez L.M., 1996. Essai de spéciation des métaux dans les sols : cas du Cu dans les vignobles. Thèse. Université Paris XII- Val de Marne, 131 p.

Florijn P.J., Nelemans J.A. et Van Beusichem M.L., 1991. Cadmium uptake by lettuce varieties. Neth J Agric Sci 39: 103-114.

Florijn P.J. et Van Beusichem M.L. 1993. Uptake and Distribution of Cadmium in Maize Inbred Lines. Plant Soil 150: 25-32.

Fox T.C. et Guerinot M.L., 1998. Molecular biology of cation transport in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49: 669-696.

Foyer C.H. et Shigeoka S., 2011. Understanding Oxidative Stress and Antioxidant Functions to Enhance photosynthesis. Plant Physiol. Vol. 155. 1: 93-100.

Freeman J.L., Persans M.W., Nieman K., Albrecht C., Peer W., Pickering I. et Salt D.E., 2004. Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators. *Plant Cell* 16: 2176-2191.

G

Gallego S.M., Benavides M.P., Tomaro M.L., 1996. Effect of heavy Metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of an oxidative stress. *Plant Sci* 121: 151-159.

Gaxiola R.A, Fink G.R. et Hirschi K.D., 2002. Genetic manipulation of vacuolar proton pumps and transporters. *Plant Physiol.*, 129: 967-973.

Gerendás J. et Führs H., 2013. The significance of magnesium for crop quality, *Plant Soil* 368: 101-128.

Gerrish C. et Minibayeva F., 2002. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system. *J. Exp. Bot.* 53, 1367-1376.

Ghnaya T., Nouairi I., Slama I., Messedi D., Grignon C., Abdelly C. et Ghorbel M.H., 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. et Abdelly C., 2007. Cd-induced growth reduction in the halophyte *Sesuvium portulacastrum* is significantly improved by NaCl. *J. Plant Res.* 120: 309-316.

Girling C.A. et Peterson P.J., 1981. The significance of the cadmium species in uptake and metabolism of cadmium in crop plants. *J. Plant Nutr.* 3: 707-720.

Godt J., Scheidig F., Grosse-Siestrup C., Esche V., Brandenburg P., Reich A. et Groneberg D., 2006. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *J. Occup. Med. Toxicol.* 1: 22-27.

Goldsbrough P., 2000. Metal tolerance in plants: the role of phytochelatins and metallothioneins. In: Terry N, Banuelos G, Eds. *Phytoremediation of contaminated soil and water*. CRC Press LLC, 221-233.

Gong J.M., Lee D.A. et Schroeder J.I., 2003. Long-distance root-to-shoot transport of phytochelatins and cadmium in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 10118-10123.

Granse A. et Fuhrs H., 2013. Magnesium mobility in soils as a challenge for soil and plant analysis, magnesium fertilization and root uptake under adverse growth conditions, *Plant Soil* 368: 5-21.

Grant C.A. et Sheppard S.C., 2008. Fertilizer Impacts on Cadmium Availability in Agricultural Soils and Crops, Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal. Agriculture and Agri-Food Canada, Brandon Research Centre 14: 210-228.

Gravot A., Lieutaud A., Verret F., Auroy P., Vavasseur A. et Richaud P., 2004. AtHMA3, a plant P1B-ATPase, functions as a Cd/Pb transporter in yeast. *FEBS Lett.* 561: 22-28.

Greger M. et Lindberg S., 1986. Effect of cadmium and EDTA on young sugar beets (*Beta vulgaris*). In cadmium uptake and sugar accumulation. *Physiol. Plant* 66: 69-74.

Grill E., Winnacker E.L. et Zenk M.H., 1985. Phytochelatins: the principal heavy-metal complexing peptides of higher plants. *Science* 230: 674-676.

Gruber B. et Kosegarten H., 2002. Depressed growth of non-chlorotic vine grown in calcareous soil is an iron deficiency symptom prior to leaf chlorosis. *J. Plant Nutr. Soil. Sci.*, 165:111-117.

Grupe M. et Kuntze H., 1988. Investigations about the availability of heavy-metals in soils with lithogen and anthropogen enrichment .1. Cd and Cu. *Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde*, 151, 5: 319-324.

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

Guo T.R., Zhang G.P., Zhou M.X., Wu F.B. et Chen J.X., 2007. Influence of aluminum and cadmium stresses on mineral nutrition and root exudates in two barley cultivars. *Pedosphere* 17: 505-512.

H

Ha S.B., Smith A.P., Howden R., Dietrich W.M., Bugg S., O'Connell M.J., Goldsbrough P.B. et Cobbett C.S., 1999. Phytochelatin synthase genes from *Arabidopsis* and the yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Plant Cell*. 11: 1153-1164.

Habig W.H., Pabst M.J. et Jakoby W.B., 1974. Glutathion S-Transferases. The First enzymatic step in mercapturic acid formation. *The journal of Biological Chemistry* 249: 7130-7139.

Haghiri F., 1974. Plant uptake of cadmium as influenced by cation exchange capacity, organic matter, zinc and soil temperature. *J. Env. Qual.* 3: 180-183.

Haliwell B. et Gutteridge J. M. C., 1986. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine : some problems and concepts. *Arch. Biochem. Biophys.* 246; 501-514.

Hall J.L., 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J Exp Bot* 53: 1-11.

Hall J.L., et Williams L.E., 2003. Transition metal transporters in plants. *Journal of Experimental Botany* 54 : 2601-2613.

Hamer D.H., 1986. Metallothionein. *Annu Rev Biochem* 55: 913-951.

Hanikenne M., 2003. *Chlamydomonas reinhardtii* as a eukaryotic photosynthetic model for studies of heavy metal homeostasis and tolerance, *New Phytol.* 159: 331-340.

Hardiman R.T. et Jacoby B., 1984. Absorption and translocation of Cd in bush beans (*Phaseolus vulgaris*). *Physiol Plant* 61: 670-674.

Hart J.J., Norvell W.A., Welch R.M., Sullivan L.A. et Kochian L.V. 1998a. Characterization of zinc uptake, binding, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars. *Plant Physiol* 118: 219-226.

Hart J.J., Welch R.M., Norvell W.A., Sullivan L.A. et Kochian L.V. 1998b. Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars. *Plant Physiol* 116: 1413-1420.

Hasenstein K.H., Evans M.L., Stinemetz C.L., Moore R., Fondren W.M., Koon E.C., Higby M.A. et Smucker A.J., 1988. Comparative effectiveness of metal ions in inducing curvature of primary roots of *Zea mays*. *Plant Physiol.* 86: 885-889.

He Z., Li J., Zhang H. et Ma M., 2005. Different effects of calcium and lanthanum on the expression of phytochelatin synthase gene and cadmium absorption in *Lactuca sativa*. *Plant Sci* 168: 309-318.

He J.Y., Ren Y.F., Zhu C. et Jiang D.A., 2008. Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and seed amylase activities in rice (*Oryza sativa*). *Rice Science* 15: 319-325.

Henson M.C., Chedrese P.J., 2004. Endocrine disruption by cadmium, a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction. *Exp Biol. Med (Maywood)* 229: 383-392.

Herbette S., Tacconat L., Hugouvieux V., Piette L., Magniette M.L.M., Cuine P., Auroy S., Richaud P., Forestier C., Bourguignon J., Renou J.P., Vavasseur N. et Leonhardt N., 2006. Genome-wide transcriptome profiling of the early cadmium response of *Arabidopsis* roots and shoots. *Biochimie* 88: 1751-1765.

Hermans C. et Verbruggen N., 2005. Physiological characterization of Mg deficiency in *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 56: 2153-2161.

Hermans C., Chen J., Coppens F., Inzé D. et Verbruggen N., 2011. Low magnesium status in plants enhances tolerance to cadmium exposure, *New Phytol.* 192: 428-436.

Hermans C., Conn S.J., Chen J., Xiao Q. et Verbruggen N., 2013. An update on magnesium homeostasis mechanisms in plants, *Metallomics* 5: 1170-1183.

Hernandez J.A., Olmos E., Corpas J.F., Sevilla F. et Del Rio L.A., 1995. Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant Sci.* 105: 151-167.

Hinkle P.M., Shanshala E.D. et Nelson E.J., 1992. Measurement of intracellular cadmium with fluorescent dyes. Further evidence for the role of calcium channels in cadmium uptake. *J. Biol. Chem.* 267: 25553-25559.

Hirschi K.D., Korenkov V.D., Wilganowski N.L. et Wagner G.J., 2000. Expression of *Arabidopsis* CAX2 in tobacco. Altered metal accumulation and increased manganese tolerance. *Plant Physiol.* 124: 125-133.

Hirschi K.D., 2001. Vacuolar H⁺/Ca²⁺ transport: who's directing the traffic? *Trends Plant Sci.*, 6: 100-104.

Hooshang M. et Nylund J. E., 1996. Does liquid fertilisation affect fine root dynamics and lifespan of mycorrhizal roots? *Plant and Soil* 185: 305-309.

Hopkins W.G., 2003. *Physiologie végétale*. 1st Ed. De Boeck Université 532p.

Hovmand M.F., Tjell J.C. et Mosbaek H., 1983. Plant uptake of airborne cadmium. *Environ Poll* 30: 27-38.

Hsu Y.T. et Kao C.H., 2004. Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. *Plant Growth Regul* 42: 227-238.

I

Ingelmo F., Molina M.J., Soriano M.D., Gallardo A. et Lapena L., 2012. Influence of organic matter transformations on the bioavailability of heavy metals in a sludge based compost. *Journal of Environmental Management*, 95: 5104-5109.

J

Jarvis S.C., Jones L.H.P. et Hopper M.J., 1976. Cadmium uptake from solution by plants and its transport from roots to shoots. *Plant Soil* 44: 179-191.

Juang K.W., Lee Y.I., Lai H.Y. et Chen B.C., 2014. Influence of magnesium on copper phytotoxicity to and accumulation and translocation in grapevines. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 104: 36-42.

K

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

Kabata Pendias A., 2011. Trace elements in soils and plants. Fourth Ed. CRC Press 548p.

Karley A.J. et White P.J., 2009. Moving cationic minerals to edible tissues: potassium, magnesium, calcium, *Curr. Opin. Plant Biol.* 12 : 291-298.

Kashem M.D.A. et Kawai S., 2007. Alleviation of cadmium phytotoxicity by magnesium in Japanese mustard spinach. *Soil Sci. Plant Nutr.* 53: 246-251.

Kaur J. et Duffus C., 1989. The effect of Naf on cereal seed germination and seedling growth. *Plant Cell and Envir.* 12: 155-161.

Kazantzis G., 1979. Renal tubular dysfunction and abnormalities of calcium metabolism in cadmium workers. *Environ. Health Perspect* 28 : 155-159.

Kehrer JP. 2000. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 149 : 43-50.

Kennedy C.D. et Gonsalves F.A.N., 1987. The action of divalent zinc cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and H⁺ efflux of excised roots. *J. Exp. Bot.* 38: 800-817.

Kim C.G., Bell J.N.B. et Power S.A., 2003. Effects of soil cadmium on *Pinus sylvestris* L. seedling. *Plant Soil* 257: 443-449.

Kim D.Y., Bovet L., Maeshima M., Martinoia E. et Lee Y., 2007. The ABC transporter AtPDR8 is a cadmium extrusion pump conferring heavy metal resistance. *Plant J* 50: 207-218.

Kirkham M.B., 2006. Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments. *Geoderma* 137: 19-32.

Komarek M., Szakova J., Rohoskova M., Javorska H., Chrastny V. et Balik J., 2008. Copper contamination of vineyard soils from small wine producers: a case study from the Czech Republic. *Geoderma*, 147: 16-22.

Kondo N., Imai K., Isobe M., Goto T., Murasugi A., Wada-Nakagawa C. et Hayashi Y., 1984. Cadystin A and B, major unit peptides comprising cadmium binding peptides induced in a fission yeast - separation, revision of structures and synthesis, *Tetrahed Lett* 25: 3869-3872.

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

Kopittke P.M., Asher C.J., Blamey F.P.C. et Menzies N.W., 2007a. Toxic effects of Pb²⁺ on the growth and mineral nutrition of signal grass (*Brachiaria decumbens*) and Rhodes grass (*Chloris gayana*). *Plant Soil*, 300: 127-136.

Kopittke P.M., Asher C.J., Kopittke R.A. et Menzies N.W., 2007b. Toxic effects of Pb²⁺ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environ. Pollut.*, 150 : 280-287.

Kopittke P.M., Asher C.J., Blamey F.P.C. et Menzies N.W., 2009. Toxic effects of Cu²⁺ on growth, nutrition, root morphology, and distribution of Cu in roots of Sabi grass. *Science of the Total Environment*. 407: 4616-4621.

Kopittke P.M., Kinraide T.B., Wang P., Blarney F.P.C., Reichman S.M. et Menzies N.W., 2011. Alleviation of Cu and Pb rhizotoxicities in cowpea (*Vigna unguiculata*) as related to ion activities at root-cell plasma membrane surface, *Environ. Sci. Technol.* 45: 4966-4973.

Kopittke P.M., Wang P., Menzies N.W., Naidu R. et Kinraide T.B., 2014. A web-accessible computer program for calculating electrical potentials and ion activities at cell-membrane surfaces. *Plant and Soil* 375: 35-46.

Krämer U., Talke I.N. et Hanikenne M., 2007. Transition metal transport. *FEBS Lett* 581: 2263-2272.

Ksouri R., Gharsalli M. et Lachaal M., 2005. Physiological responses of Tunisian grapevine varieties to bicarbonate-induced iron deficiency. *J. Plant Physiol.*, 162: 335-341.

Kuboi T., Noguchi A. et Yazaki J., 1986. Family-dependent cadmium accumulation characteristics in higher plants. *Plant Soil* 92: 405-415.

Kumar, R.G., Dubey, R.S., 1999. Glutamine Synthetase Isoforms from Rice Seedlings : Effects of stress on Enzyme Activity and the Protective Roles of Osmolytes. *J.Plant Physiol.* 155 : 118-121.

L

Lamb C. et Dixon R. A., 1997. The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 251-271.

Lanaras T., Moustakas M., Symeonidis L., Diamantoglou S. et Karataglis S., 1993. Plant metal content, growth responses and some photosynthetic measurement on field-cultivated wheat growing on ore bodies enriched in Cu. *Physiol. Plant*, 88: 307-314.

Larbi A., Morales F., Abadía A., Gogorcena R., Lucena J. et Abadía J., 2002. Effects of Cd and Pb in sugar beet plants grown in nutrient solution: induced Fe deficiency and growth inhibition. *Funct Plant Biol* 29: 1453-1464.

Le Lay P., Isaure M.P., Sarry J.E., Kuhn L., Fayard B., Le Bail J.L., Bastien O., Garin J., Roby C. et Bourguignon J., 2006. Metabolomic, proteomic and biophysical analyses of *Arabidopsis thaliana* cells exposed to a caesium stress. Influence of potassium supply. *Biochimie* 88: 1533-1547.

Le T.T.Y., Peijnenburg W.J.G.M., Hendriks A.J., et Vijver M.G., 2012. Predicting effects of cations on copper toxicity to lettuce (*Lactuca sativa*) by the biotic ligand model, *Environ. Toxicol. Chem.* 31: 355-359.

Lexmond T.M. et Van der Vorm P.D.J., 1981. The effect of pH on copper toxicity to hydroponically grown maize. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 29: 217-238.

Li L. et Kaplan J. 1997. Characterization of two homologous yeast genes that encode mitochondrial iron transporters. *J Biol Chem* 272: 28485-28493.

Li P., Zhao C., Zhong Y. Wang X. et Wang J., 2016. Calcium alleviates cadmium- induced inhibition on root growth by maintaining auxin homeostasis in *Arabidopsis* seedling. *Protoplasma* 253: 185-200.

Lidon F.C. et Henriques F.S., 1992. Effects of increasing concentrations of Cu on metal uptake kinetics and biomass yields. *Soil Science*, 154: 44-49.

Lin C.C., Chen L.M. et Liu Z.H., 2005. Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots. *Plant Science* 168: 855-861.

Liu D.H., Jiang W.S., Gao X.Z., 2007. Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic. *Biol Plant* 47: 79-83.

Llorens N., Arola L., Blade C. et Mas A., 2000. Effects of copper exposure upon nitrogen metabolism in tissue cultured *Vitis vinifera*. *Plant Sci.*, 160: 159-163.

Lock K., Criel P., De Schamphelaere K.A., Van Eeckhout H. et Janssen C.R., 2007. Influence of calcium, magnesium, sodium, potassium and pH on copper toxicity to barley (*Hordeum vulgare*), *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 68: 299-304.

Loggini et al., 1999 in Youbi, M., 2005 : Effets de deux fongicides Artea et Punch nouvellement introduits en Algérie sur la physiologie et le métabolisme respiratoire du blé dur (*Triticum durum* Desf). Thèse de Magister de l'Université Badji Mokhtar de Annaba.

Lombi E., Zhao F.J., Dunham S.J. et McGrath S.P., 2000. Cadmium accumulation in opulations of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense*. *New phytol* 145: 11-20.

Loneragan J.F., 1981. Distribution and movement of copper in plants. *Copper in soils and plants.* Ed Loneragan J.F., Robson A.D. and Graham R.D., Academic Press, 165-187.

Lopez-Chuken U.J. et Young S.D., 2005. Plant screening of halophyte species for cadmium phytoremediation. *Z Naturforsch C* 60: 236-243.

Lou L.Q., Shen Z.G. et Li X.D., 2004. The copper tolerance mechanisms of *Elsholtzia haichowensis*, a plant from copper-enriched soils. *Environmental and Experimental Botany*, 51:111-120.

Loué A., 1993. Oligoéléments en agriculture. Ed. Nathan, 577p.

Lozano-Rodriguez E., Hernandez L.E., Bonay P. et CarpenaRuiz R.O., 1997. Distribution of cadmium in shoot and root tissues of maize and pea plants: Physiological disturbances. *J Exp Bot* 48: 123-128.

Luna C.M., Gonzalez C.A. et Trippi V.S., 1994. Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. *Plant Cell. Physiol.*, 35: 11-15.

Luo X.S, Li L.Z. et Zhou D.M., 2008. Effect of cations on copper toxicity to wheat root: implications for the biotic ligand model, *Chemosphere* 73: 401-406.

M

Maathuis F.J., 2009. Physiological functions of mineral macronutrients, *Curr. Opin. Plant Biol.* 12: 250-258.

MacRobbie E.A. et Kurup S., 2007. Signalling mechanisms in the regulation of vacuolar ion release in guard cells. *New Phytol.* 175: 630-640.

Maksymiec W., 2007. Signaling responses in plants to heavy metals. *Acta Physiol. Plant* 29: 177-187.

Marcellin H., 1974. La vigne dans les sols acides du Roussillon. *Progrès agricole et viticole*, 17: 548-555.

Marschner H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd Ed London.UK: Academic Press.

Marschner H., 2012. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants, 3rd Ed London, Academic Press.

Martínez Dominguez D., Cordoba Garcia F., Canalejo Raya A. et Torronteras Santiago R. 2010. Cadmium-induced oxidative stress and the response of the antioxidative defense system in *Spartina densiflora*. *Plant Physiol.*

Märtinoia E., Klein M., Geisler M., Bovet L., Forestier C., kolukisaoglu U., Müller-Röber B. et Schulz B., 2002. Multifunctionality of plant ABC transporters – more than just detoxifiers. *Planta*, 214: 345-355.

Mäser P., Thomine S., Schroeder J.I., Ward J.M., Hirschi K., Sze H., Talke I.N., Amtmann A., Maathuis F.J., Sanders D., Harper J.F., Tchieu J., Gribskov M., Persans M.W., Salt D.E., Kim S.A. et Guerinot M.L., 2001. Phylogenetic relationships within cation transporter families of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 126: 1646-1667.

McBride M.B., 1980. Chemisorption of Cd on calcite surfaces. *Soil Sci Soc Am J* 44: 26-33.

McBride M.B., 1981. Forms and distribution of copper in solid and solution phases of soil. Copper in soils and plants. Ed Loneragan J.F., Robson A.D. and Graham R.D., Academic Press, 25-45.

- McBride M.B., 1995.** Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge - Are usepa regulations protective. *Journal of Environmental Quality* 24: 5-18.
- McCord J., 1985** Oxygen derived free radicals in post ischemic tissue injury. *New Engl. Med.* 312: 159-163.
- McLaughlin M.J., Williams C.M.J., McKay A., Kirkham R., Gunton J., Jackson K.J., Thompson R., Dowling B., Partington D., Smart M.K. et Tiller K.G., 1994.** Effect of cultivar on uptake of cadmium by potato tubers. *Aust. J. Agric. Res.* 45: 1483-1495.
- McLaughlin M.J., Andrew S.J., Smart M.K. et Smolders E., 1998a.** Effects of sulfate on cadmium uptake by Swiss chard: I. Effects of complexation and calcium competition in nutrient solutions. *Plant Soil* 202: 211-216.
- McLaughlin M.J., Lambrechts R.M., Smolders E. et Smart M.K., 1998b.** Effects of sulfate on cadmium uptake by Swiss chard: II. Effects due to sulfate addition to soil. *Plant Soil* 202: 217-222.
- McLaughlin M.J. et Singh B.R., 1999.** Cadmium in soil and plants. Eds. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Netherlands, 273p.
- McLaughlin S.B. et Wimmer R., 1999.** Calcium Physiology and Terrestrial Ecosystem Processes. Tansley Review No. 104. *New Phytol.* 142: 373-417.
- Meharg A.A. et Macnair M.R., 1992.** Genetic correlation between arsenate tolerance and the rate influx of arsenate and phosphate in *Holcus lamatus*. *Heredity* 69: 336-341.
- Mendoza-Cózatl D.G., Butko E., Springer F., Torpey J.W., Komives E.A., Kehr J. et Schroeder J.I., 2008.** Identification of high levels of phytochelatins, glutathione and cadmium in the phloem sap of *Brassica napus*. A role for thiol-peptides in the long-distance transport of cadmium and the effect of cadmium on iron translocation. *Plant J* 54: 249-259.
- Mengutay M., Ceylan Y., Kutman U. et Cakmak I., 2013.** Adequate magnesium nutrition mitigates adverse effects of heat stress on maize and wheat, *Plant Soil* 368: 57-72.
- Mench M, Coussin F., Buissiere S., Lagriffoul A. et Mocquot B., 1998.** Validation et répétabilité d'un test de toxicité chronique sur végétal (PLANTOX) et d'un protocole de dilution associé, pour déterminer les paramètres de toxicité de matrices de références (sols et déchets) contenant des éléments traces ; étude de son extension à un autre organisme, *Zea mays* L. INRA - ADEME.
- Mensch M. et Baize D., 2004.** Contamination des sols et de nos aliments d'origine végétale par les éléments en traces, mesures pour réduire l'exposition. *Courrier de l'environnement de l'INRA* 52 : 31-54.
- Metwally A., Finkemeier I., Georgi M. et Dietz K.J., 2003.** Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiol* 132: 272-281.
- Michaud A.M., Bravin M.N., Galleguillos M. et Hinsinger P., 2007.** Copper uptake and phytotoxicity as assessed in situ for durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.) cultivated in Cu-contaminated, former vineyard soils. *Plant Soil*, 298: 99-111.

Mihoub A., Chaoui A. et El Ferjani E., 2005. Changements biochimiques induits par le cadmium et le cuivre au cours de la germination des graines de petits pois (*Pisum sativum* L.). C. R. de Biologie. Elsevier 328: 33-41.

Mikkelsen M. D., Olsen C. E., et Halkier B. A., 2010. Production of the cancer-preventive glucoraphanin in tobacco. Mol. Plant. 3: 751-759.

Milone M.T., Sgherri C., Clijsters H. et Navari-Izzo F., 2003. Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentration of cadmium. Environ Exp Bot 50: 265-276.

Miotto A., Ceretta C.A., Brunetto G., Nicoloso F.T., Giroto E., Farias J.G., Tiecher T.L., De Conti L. et Trentin G., 2014. Copper uptake, accumulation and physiological changes in adult grapevines in response to excess copper in soil. Plant and Soil, 374: 593-610.

Mirlean N., Roisenberg A. et Chies J.O., 2007. Metal contamination of vineyard soils in wet subtropics (southern Brazil). Environmental Pollution 149: 10-17.

Mobin M. et Khan N.A., 2007. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. J. Plant Physiol. 164: 601-610.

Moller I. M., Jensen P.E. et Hansson A., 2007. Oxidative modification to cellular components in plants Annu. Rev. Plant Biol. 58: 481-495.

Mondal N.K., 2013. Effect of varying cadmium stress on chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedlings : an ultra structural study. Ann. Environ. Sci. 7: 59-70.

Moons A., 2003. *Ospdr9*, which encodes a PDR-type ABC transporter, is induced by heavy metals, hypoxic stress and redox perturbations in rice roots. FEBS Lett. 553: 370-376.

Morel M., Crouzet J., Gravot A., Auroy P., Leonhardt N., Vavasseur A. et Richaud P., 2009. AtHMA3, a PIB-ATPase allowing Cd/Zn/Co/Pb vacuolar storage in *Arabidopsis*. Plant Physiol 149: 894-904.

Morinaga K., Imai S., Yakushiji H. et Koshita Y., 2003. Effects of fruit load on partitioning of ¹⁵N and ¹³C, respiration, and growth of grapevine roots at different fruit stages. Scientia Horticulturae. 97: 239-253.

Moulis J.M., Bourguignon J., Catty P., 2014. Cadmium, the Royal Society of Chemistry. Chap 23: 695-746.

Muschitz A., 2009. Réponses physiologiques de végétaux supérieurs aux stress métalliques. Caractérisation du rôle des parois cellulaires dans les stratégies défensives des cellules de tomates (*Solanum lycopersicum* L.) face aux éléments traces métalliques. Thèse de Doctorat Université d'Artois. 234p.

N

Nagalakshmi, N., Prasad, M.N.V., 2001. Responses of glutathione cycle enzymes and glutathione metabolism to copper stress in *Scenedesmus bijugatus*. Plant Sci 160: 291-299.

Nazir A.B., Aabid H. M., Lal E.P et Manzoor A. R., 2014. Antagonistic effect of calcium (Ca^{2+}) on cadmium (Cd) viz. chlorophyll, protein and oil yield of mustard plant (*Brassica juncea* L.) var. Pusa bolt. International Journal of Development Research Vol.4. 3: 683-687.

O

Ollat N., Laborde B., Neveux M., Diakou-Verdin P., Renaud C. et Moing A., 2003. Organic acid metabolism in roots of various grapevine (*Vitis*) rootstocks submitted to iron deficiency and bicarbonate nutrition. J. Plant Nutr., 26:2165–2176.

Ould Babana M.EL.B., 1999. Utilisation de quelques marqueurs physiologiques, biochimiques et chimiques (équilibre ionique) dans l'étude de la tolérance à la salinité chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Thèse de Magister Université de Annaba, 104p.

Ouzounidou G., Eleftheriou E.P. et Karataglis S., 1992. Ecophysiological and ultrastructural effects of copper in *Thlaspi ochroleucum* (cruciferae). Can. J. Bot., 70: 947-957.

Ouzounidou G., Moustakas M. et Eleftheriou E.P., 1997. Physiological and ultrastructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 32: 154-160.

Ovecka M. et Takac T., 2014. Managing heavy metal toxicity stress in plants: Biological and biotechnological tools. Biotechnology Advances 32: 73-86.

P

Padmaja K., Prasad D.D.K. et Prasad A.R.K., 1990. Inhibit of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. seedlings by cadmium acetate. Photosynthetica 24: 399-405.

Panou-Filotheou et Bosabalidis A.M., 2004. Root structural aspects associated with copper toxicity in oregano (*Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*). Plant science, 166: 1497-1504.

Parvaiz A., Arafat A., AbdelLatef A.A., Elsayed F. AbdAllah E.F., Hashem A., Sarwat M., Naser A., Anjum N.A. et Gucel S., 2016. Calcium and potassium Supplementation Enhanced Growth, Osmolyte Secondary Metabolite Production, and Enzymatic Antioxidant Machinery in Cadmium- Exposed chickpea (*Cicer arietinum* L.) Front. Plant. Sci. 7: 513.

Paschke M.W. et Redente E.F., 2002. Copper toxicity thresholds for important restoration grass species of the Western United States. Environ. Toxicol. Chem. 21: 2692-2697.

Pence N.S., Larsen P.B., Ebbs S.D., Letham D.L.D., Lasat M.M., Garvin D.F., Eide D. et Kochian L.V., 2000. The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. Proc. Natl. Acad. Sci., 97: 4956-4960.

Perfus-Barbeoch L., Leonhardt N., Vavasseur A. et Forestier C., 2002. Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. Plant J. 32 : 539-548.

Pietrzak U. et McPhail D.C., 2004. Copper accumulation, distribution and fractionation in vineyard soils of Victoria, Australia. Geoderma, 122, 151-166.

Pilon M., Abdel-Ghany S.E., Cohu C.M., K.A. Gogolin et H Ye., 2006. Copper cofactor delivery in plant cells. Current Opinion in Plant Biology 9: 256-263.

Pilon-Smits E., 2005. Phytoremediation. Annual Review of Plant Biology 56, 15-39.

Pokorny B., Sayegh-Petkovsek S., Ribaric-Lasnik C., Vrtacnik J., Doganoc D.Z. et Adamic M., 2004. Fungi ingestion as an important factor influencing heavy metal intake in roe deer: evidence from faeces. Sci. Total Environ. 324: 223-234.

Pollard A.J., Powell KD, Harper FA et Smith JAC, 2002. The genetic Basis of metal hyperaccumulation in plants, Critical Review in Plant Sciences 21: 539-566.

Polle A. et Schützendübel A., 2003. Heavy metal signalling in plants: linking cellular and organismic responses. In H Hirt, K Shinozaki, eds. Plant Responses to Abiotic Stress, Springer-Verlag, Berlin 4: 187-215.

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

Q

Quartacci M.F., Pinzino C., Sgherri C.L.M., Dalla Vecchia F. et Navari-Izzo F., 2000. Growth in excess copper induces changes in the lipid composition and fluidity of PSII enriched membranes in wheat. Physiologia Plantarum, 108: 87-93.

R

Rai V.K., Singh G., Thakur P.K. et Banyal S., 1983. Protein and amino acid relation to drought resistance. Plant Physiol. Biochem. 10: 161-167.

Ramos I., Esteban E., Lucena J.J. et Garate A., 2002. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of Lactuca sp Cd-Mn interaction. Plant Sci 162: 761-767.

Rausser W.E. et Ackerly C.A., 1987. Localisation of cadmium in granules within differentiating and mature root cells. Can J Bot 65: 643-646.

Rausser W.E., 1999. Structure and function of metal chelators produced by plants: the case for organic acids, amino acids, phytin, and metallothioneins. Cell Biochem. Biophys. 31: 19-48.

Razinger J., Dermastia M., Koce J.D. et Zrimec A., 2008. Oxidative stress in duckweed (*Lemna minor* L.) caused by short-term cadmium exposure. Environ. Pollut. 153, 687-694.

Remon E., 2006. Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. Université Jean Monnet, Saint Etienne.

Rentel M., Knight M.R., 2004. Oxidative stress-induced calcium signaling in *Arabidopsis*. Plant Physiol. 135; 1471-1479.

Robert M., 1995. Différents types de transfert du sol vers les hydrosystèmes : dissous ou particulaire, latéral ou vertical. Actes des sixièmes journées du DEA Sciences et techniques de l'Environnement : Transfert des polluants dans les hydrosystèmes, paris, 13-26.

Robinson J.P., Darzynkiewicz Z., Dean P.N., Orfao A., Rabinovitch P.S., Stewart C.C., Tanke H.J. et Weeless L.L. 1997. Current Protocols in Cytometry, John Wiley and Sons, New York.

Romero-Puertas M. C., Rodríguez-Serrano M., Corpas F. J., Gómez M., Del Río L. A. et Sandalio L. M., 2004. Cadmium induced subcellular accumulation of O₂ and H₂O₂ in pea leaves. *Plant Cell Environ.* 27: 1122–1134.

Romero-Puertas M.C., Rodríguez-Serrano M., Corpas F.J., Gómez M., Del Río L.A. et Sandalio L.M., 2004. Cadmium induced subcellular accumulation of O₂ and H₂O₂ in pea leaves. *Plant Cell Environ.* 27: 1122–1134.

Romeu-Moreno A. et Mas A., 1999. Effects of copper exposure in tissue cultured *Vitis vinifera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 2519-2522.

Römheld V. et Marschner H., 1986. Mobilization of iron in the rhizosphere of different plant species. *Adv. Plant Nutr.* 2: 155-204.

Ros R. Cooke D.T. Martinez-Cortina C et Picazo I., 1992. Nickel and cadmium-related changes in growth, plasma membrane lipid composition, ATPase hydrolytic activity and oration pumping of rice (*Oryza sativa* L. CV. Bahia) shoots. *J Exp Bot* 43: 1475-1481.

Rouphael Y. Cardarelli M., Rea E. et Colla G., 2008. Grafting of cucumber as a means to minimize copper toxicity. *Environmental and Experimental Botany.* 63: 49-58.

S

Sadana U.S., Bijay S., 1989. Effect of cadmium-zinc interaction on yield and cadmium and zinc content of maize (*Zea mays* L.). *Curr. Sci.* 58: 194-196.

Saleh A.A.H., El-Meleigy S.A., Ebad F.A., Helmy M.A., Jentschke G., Godbold D.L., 1999. Base cations ameliorate Zn toxicity but not Cu toxicity in sugar beet (*Beta vulgaris*), *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 162: 275-279.

Salemaa M. et Uotila T., 2001. Seed bank composition and seedling survival in forest soil polluted with heavy metals. *Basic and Applied Ecology* 2: 251-263.

Salt D.E. et Wagner G.J., 1993. Cadmium transport across tonoplast of vesicles from oat roots. Evidence for a Cd²⁺/H⁺ antiport activity. *J Biol Chem* 268: 12297-12302.

Salt D.E., Prince R.C., Pickering I.J. et Raskin I., 1995. Mechanisms of Cadmium Mobility and Accumulation in Indian Mustard. *Plant Physiol.* 109: 1427-1433.

Salt D.E., Smith R.D. et Raskin I., 1998. Phytoremediation. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 49: 643-668.

Salt D.E., Kato N., Krämer U., Smith R.D. et Raskin I., 2000. The role of root exudates in nickel hyperaccumulation and tolerance in accumulator and non accumulator species of *Thlaspi*. In: Terry N, Banuelos G, eds. *Phytoremediation of contaminated soil and water.* CRC Press LLC, 189-200.

- Sandalio L.M., Dalurzo H.C., Gomez M., Romero-Puertas M.C. et Del Rio L.A., 2001.** Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *J. Exp. Bot.* 52: 2115-2126.
- Sanità di Toppi L. et Gabbrielli R., 1999.** Response to cadmium in higher plants. *Environ Exp Bot* 41: 105-130.
- Sarry J.E., Kuhn L., Ducruix C., Lafaye A., Junot C., Hugouvieux V., Jourdain A., Bastien O., Fievet J.B., Vailhen D., Amekraz B., Moulin C., Ezan E., Garin J. et Bourguignon J., 2006.** The early responses of *Arabidopsis thaliana* cells to cadmium exposure explored by protein and metabolite profiling analyses. *Proteomics* 6 : 2180-2198.
- Sarwar N., Malhi S.S., Zia M.H., Naeem A., Bibi S. et Farid G., 2010.** Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants. *J. Sci. Food Agric.* 90: 925-937.
- Sarwat M., Ahmad P., Nabi G. et Hu X., 2013.** Ca²⁺ signals: The versatile decoders of environmental cues. *Crit Rev Biotechnol* 33: 97-109.
- Sauvé S., Manna S., Turmel M.C., Roy A.G. et Courchesne F., 2003.** Solid-solution partitioning of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn in the organic horizons of a forest soil. *Environ. Sci. Technol.* 37 : 5191-5196.
- Scheffer K., Stach W. et Vardakis F., 1979.** Über die verteilung der schwermetallen eisen. Manga, Kupfer und Zink in Sommergesternpflanzen, *Landwirtsch. Forsch.*, 2: 326.
- Schenker M., Fan T.W.M. et Crowley D.E., 2000.** Phytosiderophores influence on cadmium mobilization and uptake by wheat and barley plants. *J Environ Qual* 30: 2091-2098.
- Schonewille J.T., 2013.** Magnesium in dairy cow nutrition: an overview, *Plant Soil* 368: 167-178.
- Schützendübel A., Schwanz P., Teichmann T., Gross K., Langenfeld-Heyser R., Goldbold D. L. et Polle A., 2001.** Cadmium induced changes in antioxidative systems, H₂O₂ content and differentiation in pine (*Pinus sylvestris*) roots. *Plant Physiol.* 127; 887-892.
- Seidal K., Jorgensen N., Elinder C.G., Sjogren B. et Vahter M., 1993.** Fatal cadmium-induced pneumonitis. *Scand. J. Work Environ. Health* 19: 429-431.
- Sela M., Garty J. et Tel-Or E., 1989.** The accumulation and the effect of heavy metals on the water fern *Azolla filiculoides*. *New Phytol* 112: 7-12.
- Senden M.H.M.N., Van Der Meer A.J.G.M., Verburg T.G. et Wolterbeek H.T., 1995.** Citric acid in tomato plant roots and its effect on cadmium uptake and distribution. *Plant Soil* 171: 333-339.
- Seol Y. et Javandel I., 2008.** Citric acid-modified Fenton's reaction for the oxidation of chlorinated ethylenes in soil solution systems. *Chemosphere* 72 : 537-542.
- Servais S., 2004.** Altération mitochondriale et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone: Effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3. Thèse doctorat, Université Claude bernard-Lyon 1, France, 19-35.

Sharma KG, Mason D.L., Liu G., Rea P.A., Bachhawat A.K. et Michaelis S., 2002. Localization, regulation, and substrate transport properties of Bpt1p, a *Saccharomyces cerevisiae* MRP-type ABC transporter. *Eukaryot Cell* 1(3):391-400.

Sharma S.S. et Kumar V., 2002. Responses of wild type and abscisic acid mutants of *Arabidopsis thaliana* to cadmium. *J Plant Physiol* 159: 1323-1327.

Sharma R.K. et Agrawal M., 2006. Single and combined effects of cadmium and zinc on carrots: Uptake and bioaccumulation. *J. Plant Nutr.* 29: 1791-1804.

Sharma S.S. et 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.

Sheldon A.R. et Menzies N.W., 2005. The effect of copper toxicity on the growth and root morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered solution culture. *Plant Soil*, 278: 341-349.

Siddiqui M.H., Al-Whaibi M.H., Sakran A.M., Basalah M.O. et Ali H.M., 2012. Effect of calcium and potassium on antioxidant system of *Vicia faba* L. under cadmium stress. *Int. J. Mol. Sci.* 13: 6604-6619.

Sigfridsson K.G., Bernat G., Mamedov F. et Styring S., 2004. Molecular interference of Cd²⁺ with Photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1659: 19-31.

Sing S., Saxena R., Pandey K., Bhatt K. et Sinha S., 2004. Response of antioxidants in sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown on different amendments of tannery sludge: its metal accumulation potential. *Chemosphere* 57: 1663-1673.

Singh R., Tripathi R.D., Dwivedi S., Singh M., Trivedi P.K. et Chakrabarty D., 2010. Cadmium-induced biochemical responses of *Vallisneria spiralis*. Protoplasma hyperaccumulating rice cultivar Cho-Ko-Koku. *Theor Appl Genet* 120: 1175-1182.

Siripornadulsil S., Traina S., Verma D.P. et Sayre R.T., 2002. Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. *Plant Cell* 14: 2837-2847.

Skorzynska-Polit E., Tukendorf A., Selstans E. et Bynski T., 1998. Calcium modifies cadmium effect on runner bean plants. *Environmental and experimental Botany.* 40: 275-286.

Smolders E. et McLaughlin M.J., 1996a. Chloride increases cadmium uptake in Swiss chard in a resinbuffered nutrient solution. *Soil Sci Soc Am J* 60: 1443-1447.

Smolders E. et McLaughlin M.J. 1996b. Effect of Cl on Cd uptake by Swiss chard in nutrient solutions. *Plant Soil* 179: 57-64.

Sogreah., 2007. Bilan des flux contaminants entrant sur les sols agricoles de France Métropolitaine. Bilant qualitatif de la contamination par les éléments traces métalliques et les composés traces organiques et application quantitative pour les éléments traces métalliques. Rapport Final. ADEME, 330p.

Song W.Y., Zhang Z.B., Shao H.B., Guo X.L. et Cao H.X., 2008. Relationship between calcium decoding elements and plant abiotic stress resistance. *Int J Biol Sci* 4: 116–125.

Souguir D., 2009. Modifications métaboliques, moléculaires et génotoxicité induites par le cadmium chez *Vicia faba*. Biologie végétale. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II; Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand I; Université du 7 Novembre, Carthage, Tunisie, 239p.

Sposito G., 1989. The chemistry of soils. Oxford Univ. Press, 277p.

Sreedhara A. et Cowan J.A., 2002. Structural and catalytic roles for divalent magnesium in nucleic acid biochemistry, *Biometals* 15: 211–223.

Stobart A.K., Griffiths W.T., Ameen-Bukhari I. et Sherwood R.P., 1985. The effect of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Physiol. Plant* 63: 293-298.

Sun X., Kay A.D., Kang H.Z., Small G.E., Liu G.F., Zhou X., Yin S. et Liu C.J., 2013. Correlated biogeographic variation of magnesium across trophic levels in a terrestrial food chain, *PLOS ONE* 8.

Szollosi R., Varga I.S., Erdei L. et Mihalik E., 2009. Cadmium-induced oxidative stress and antioxidative mechanisms in germinating Indian mustard (*Brassica juncea* L.) seeds. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72: 1337-1342.

T

Tang Y.T., Qiu R.L., Zeng X.W., Ying R.R., Yu F.M. et Zhou XY., 2009. Lead, zinc, cadmium hyperaccumulation and growth stimulation in *Arabis paniculata* Franch. *Environ. Exp. Bot.* 66 126-134.

Teichmann T., 2001. The biology of wood formation: scientific challenges and biotechnological perspectives. In SG Panadalai, ed. *Recent Research Developments in Plant Physiology*. Research Signpost, Trivandrum, India: 269–284.

Theodoulou F.L., 2000. Plant ABC transporters. *Biochim. Biophys. Acta*, 1465:79-103.

Thys C., Vanthomme P., Schrevens E. et De Proft M., 1991. Interactions of Cd with Zn, Cu, Mn and Fe for lettuce (*Lactuca sativa* L.) in hydroponic culture. *Plant Cell Environ.* 14: 713-717.

Tiller K.G. et Merry H., 1981. Copper pollution of agricultural soils. *Copper in soils and plants*, Ed. Loneragan J.F., Robson A.D. and Graham R.D., Academic Press, 25-45.

Toselli M., Baldi E., Marcolini G., Malaguti D., Quartieri I.M., Sorrentini G. et arangoni B., 2008. Response of potted grapevines to increasing soil copper concentration. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 15: 85-92.

Tsadilas C.D., Karaivazoglou N.A., Tsotsolis N.C., Stamatiadis S. et Samaras V., 2005. Cadmium uptake by tobacco as affected by liming, N form, and year of cultivation. *Environ. Pollut.* 134: 239-246.

Tudoreanu L. et Phillips C.J.V., 2004. Empirical models of cadmium accumulation in maize, rye grass and soya bean plants. *J. Sci. Food Agr.* 84: 845-852.

Turner M. A., 1973. Effect of cadmium treatment on cadmium and zinc uptake by selected vegetable species. *J. Environ. Qual.* 2:118-119.

Tuteja N. et Sopory S.K., 2008. Chemical signaling under abiotic stress environment in plants. *Plant Signal Behav* 3: 525–536.

Tyler L.D. et McBride M.B., 1982. Influence of Ca, pH and humic acid on cadmium uptake. *Plant Soil* 64: 259-262.

V

Van Assche F. et Clijsters H., 1985. Inhibition of photosynthesis by heavy metals. *Photosynth. Res.* 7: 31-40.

Van Hullebusch E., Chatenet P., Deluchat V., Chazal P.M., Froissard D., Botineau M., Ghestem A. et Baudu M., 2003. Copper accumulation in a reservoir ecosystem following copper surface treatment. *Water, Air and Soil Pollution*, 150: 3-22.

Vassilev A. et Yordanov I., 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium-treated plants: a review. *Bulg. J. Plant Physiol.* 23: 114-133.

Vatamaniuk O.K., Bucher E.A., Ward J.T. et Rea P.A., 2001. A new pathway for heavy metal detoxification in animals. Phytochelatin synthase is required for cadmium tolerance in *Caenorhabditis elegans*. *J. Biol. Chem.* 276: 20817-20820.

Vazquez M.D., Poschenrieder C. et Barcelo J. 1992. Ultrastructural effects and localization of low cadmium concentrations in bean roots. *New Phytol* 120: 215-226.

Vazquez-Torres A., Stevanin T., Jones-Carson J., Castor M., Read R.C. et Fang F.C., 2008. Analysis of nitric oxide-dependent antimicrobial actions in macrophages and mice. *Methods Enzymol.* 437: 521- 538.

Verbruggen N, Hermans C et Schat H., 2009. Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 12: 364-372.

Vernay P., Austry A., Gauthier-Moussard C. et 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.

Verret F., Gravot A., Auroy P., Leonhardt N., David P., Nussaume L., Vavasseur A. et Richaud P., 2004. Overexpression of AtHMA4 enhances root-to-shoot translocation of zinc and cadmium and plant metal tolerance. *FEBS Lett* 576: 306-312

Villanneau E., Perry-Giraud C., Saby N., Jolivet C., Marot F., Maton D., Floch-Barneaud A., Antoni V. et Arrouays D., 2008. Détection de valeurs anormales d'éléments traces métalliques dans les sols à l'aide du Réseau de Mesure de la Qualité des Sols. *Etude et Gestion des Sols*, 15 : 3, 183-200.

Villiers F., Ducruix C., Hugouvieux V., Jarno N., Ezan E., Garin J., Junot C. et Bourguignon J., 2011. Investigating the plant response to cadmium exposure by proteomic and metabolomic approaches. *Proteomics* 11: 1650-1663.

Vinkel B., 2001. Analyse de la composition en éléments traces dans le grain de variétés de blé - Programme QUASAR. Institut de Santé Publique, d'Epidémiologie et de Développement.

W

- Wagner G.J., 1993.** Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Adv Agron* **51**: 173-212.
- Waisberg M., Black W.D., Waisberg C.M. et Hale B., 2004.** The effect of pH, time and dietary source of cadmium on the bioaccessibility and adsorption of cadmium to/from lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. *Ostinata*). *Food Chem. Toxicol.* **42**: 835-842.
- Wallace A. et Berry W.L., 1989.** Dose-response curves for zinc, cadmium and nickel in combinations of one, two, or three. *Soil Sci.* **147**: 422-425.
- Wanli G., Hussain N., Zangsuo L., et Dongfeng Y., 2016.** Magnesium deficiency in plants: An urgent problem. *The crop Journal* **4**, 83-91.
- Weckbecker, G. et Cory J.G., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia L 1210 cells in vitro. *Cancer letters* **40**: 257-264.
- Weggler-Beaton K., McLaughlin M.J. et Graham R.D. 2000.** Salinity increases cadmium uptake by wheat and Swiss chard from soil amended with biosolids. *Aust J Soil Res* **38**: 37-45.
- Weggler K., McLaughlin M.J. et Graham R.D. 2004.** Effect of chloride in soil solution on the plant availability of biosolid-borne cadmium. *J Environ Qual* **33**: 496-504.
- Weigel H.J. et Jager H.J., 1980.** Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants. *Plant Physiol* **67**: 480-482.
- Wheeler D.M. et Power I.L., 1995.** Comparison of plant uptake and plant toxicity of various ions in wheat. *Plant and Soil* **172**, 163-173.
- White P.J. et Broadley M.R., 2008.** Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets -iron-zinc-copper-calcium-magnesium-selenium and iodine. *New Phytol.* Vol **182**. **1**: 49-84.
- White P.J. et Broadley M.R., 2009.** Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets - iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine, *New Phytol.* **182**: 49-84.
- Williams L.E., Pittman J.K. et Hall J.L., 2000.** Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochim. Biophys. Acta*, **1465**: 104-126.
- Williams L.E. et Mills R.F., 2005.** P(1B)-ATPases - an ancient family of transition metal pumps with diverse functions in plants. *Trends Plant Sci* **10**: 491-502.
- Wojcik M., Vangronsveld J., D'Haen J. et Tukiendorf A., 2005.** Cadmium tolerance in *Thalyspi caerulescens* II. Localization of cadmium in *Thalyspi caerulescens*. *Environ. Exp. Bot.* **53**: 163-171.
- Wollgieh, R., Newmann D., 1995.** Stress response of tomato cell cultures to toxic metals and heat shock: differences and similarities. *J. Plant Physiol.* **146**: 736-742.
- Wolterbeek H.T., Van der Meer A. et Bruin D.E., 1988.** The uptake and distribution of cadmium in tomato plants as affected by ethylene diamine tetra acetic acid and 2,4-dinitrophenol. *Environ. Pollut.* **55**: 301-315.

Woolouse H.W. 1983. Toxicity and tolerance in the responses of plants to metals, in : O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond, H. Ziegler (Eds.), Encyclopedia of Plant physiology, New Series 12C, Springer- Verlag, Berlin, 245-300.

World Health Organization, 2000. Air Quality Guidelines for Europe, Chapter 6.2, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark, 11p.

X

Xie W., Zhou J., Wang H., Chen X., Lu Z., Yu J. et Chen X., 2009. Short-term effects of copper, cadmium and cypermethrin on deshydrogenase activity and microbial functional diversity in soils after long-term mineral or organic fertilization. Agriculture, Ecosystems and Environment, 129: 450-456.

Xu J., Yin H., Liu X. et Li X. 2010. Salt affects plant Cd-stress responses by modulating growth and Cd accumulation. Planta 231: 449-459.

Xue H., Nhat P.H., Gächter R. et Hooda P.S., 2003. The transport of Cu and Zn from agricultural soils to surface water in a small catchment. Advances in Environmental Research, 8: 69-76

Y

Yanai J., Zhao F.J., McGrath S.P. et Kosaki T., 2006. Effect of soil characteristics on Cd uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. Environmental Pollution 139: 167-175.

Yang, T. et Poovaiah, B.W., 2002. Hydrogen peroxide homeostasis: Activation of plant catalase by calcium/calmodulin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99: 4097-4102.

Yang T. et Poovaiah B.W., 2003. Calcium/calmodulin-mediated signal network in plants. Trend Plant Sci 8: 505–512.

Yruela I., 2005. Copper in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology, 17: 145-156.

Yruela I., 2009. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. Functional Plant Biology 36: 409-430.

Z

Zadoks J.C., Chang T.T. et Konzac C.F., 1974. A decimal code for the growth stage of cereals. Weeds Res. 14:415-421.

Zhao F.Y., Hu. F., Han M.M., Zhang S.Y. et Liu W., 2011. Super oxide radical and auxin are implicated in redistribution of root growth and the expression of auxin and cell-cycle genes in cadmium-stressed rice. Russ. J. Plant Physiol. 58, 851-863.

Zhou W.B., Qiu B.S., 2005. Effects of cadmium hyperaccumulation on physiological characteristics of *Sedum alfredii* Hance (Crassulaceae). Plant Science 169: 737-745.

Zhu Y.L., Pilon-Smits E.A.H., Jouanin L. et Terry N., 1999. Over expression of Glutathione Synthetase in Indian Mustard Enhances Cadmium Accumulation and Tolerance. Plant physiol. 119: 73-79.

Zornoza P., Sanchez-Pardo B. et Carpena R.O., 2010. Interaction and accumulation of manganese and cadmium in the manganese accumulator *Lupinus albus*. J. Plant Physiol. Biochem. 40: 1003-1009.

Zorrig W., 2011. Recherche et caractérisation de déterminants contrôlant l'accumulation de Cadmium chez la laitue « *Lactuca sativa* ». Thèse de doctorat de l'Université El Manar Tunis ; UMR CNRS/INRA/Université Montpellier II/Sup Agro, 276p.

Zorrig W., Shahrzaz Z., Abdelly C. et Berthomieu P., 2012. Calcium enhances cadmium tolerance and decreases cadmium accumulation in lettuce (*Lactuca sativa*). Afr. J. Biotechnol. Vol 11. 34: 8441-8448.

Site internet:

www. Axiom-Spa.com, 2013-2014.