

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques

Biotechnologie et Valorisation des Phyto-Ressources

Titre

Etude de la germination des semences d'orge marocaines
soumises au stress combiné NaCl/Cd

Présenté par :

ALLAME Zineb

Encadré par :

- **Mr LOUAHLIA Saïd**
- **Mr AMRANI JOUTEI Khalid**

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

- **Mr LOUAHLIA Saïd**
- **Mr AMRANI JOUTEI Khalid**
- **Mr DERRAZ Khalid**

Année universitaire

2020/2021

REMERCIEMENT

*Au terme de ce travail, J'ai l'énorme plaisir de présenter mes sincères remerciements à mon encadrant externe Monsieur **LOUAHLIA Saïd** Professeur à la Faculté Polydisciplinaire de Taza et mon encadrant interne et notre responsable de La licence BVPR Monsieur **AMRANI JOUTEI Khalid**, qui nous a accompagnés durant toute notre formation Je suis impressionnée par leurs simplicités et leur travail fait avec rueur.*

*Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur **DERRAZ Khalid**, membre de jury qui m'a fait le grand honneur d'évaluer ce travail.*

*Je remercie encore une fois **Mr LOUAHLIA Saïd** professeur à la faculté polydisciplinaire de Taza, l'expression de ma profonde reconnaissance, mon immense gratitude et mon grand respect, pour tous ses efforts, son savoir, ses idées, sa confiance et ses encouragements.*

Enfin je remercie tous les professeurs de la filièreBVPR pour leur soutien et le temps qui nous ont alloué.

Liste des figures

Figure 1: Laboratoire de tests et recherches.....	18
Figure 2: Boîtes de périt de la germination dans l'incubateur à 22 °C	19
Figure 3: Le bassin témoin Figure 4: Le bassin traité de sel et cadmium	20
Figure 5: Variation du taux de germination, des différentes variétés de l'orge, en fonction de traitement cadmium.....	22
Figure 6: Effets de différentes concentrations de cadmium sur la vitesse de germination sur des variétés de l'orge étudiées	23
Figure 7: Effets de différentes concentrations de cadmium sur la cinétique de germination de la variété Massine	24
Figure 8: Effets de différentes concentrations de cadmium sur la cinétique de germination de la variété Laanaceur.....	24
Figure 9: Effets de différentes concentrations de cadmium sur la cinétique de germination de la variété Amira	24
Figure 10: Effets de différentes concentrations de cadmium sur la cinétique de germination de la variété Adrar	25
Figure 11: Concentration en proline contenue dans les feuilles de l'orge prélevées sur des pousses régénérées sur milieu MS contenant différentes concentrations de NaCl et cadmium.	26
Figure 12: dosage de proline qui donne une coloration rouge rosée.....	26
Figure 13: effet du cadmium et sel sur la biosynthèse des chlorophylles et caroténoïdes dans les feuilles de l'orge	27

Table des matières

REMERCIEMENT.....	2
Introduction.....	7
Chapitre 1 : Etude bibliographique	8
I. Généralités sur les céréales.....	8
L'avoine : Au 6e rang des surfaces et de la production la culture de l'avoine est en nette régression dans la majorité des pays. Il en est de même du seigle (7e rang).....	9
II. Orge (<i>Hordeum vulgare</i>)	9
1. Classification	9
2. Position géographique et production de l'orge au Maroc	9
3. Description botanique	10
a. Appareil végétatif.....	10
b. Système racinaire.....	10
c. Système aérien.....	10
4. Besoins agroécologiques	11
5. Cycle de développement	11
III. Métaux lourds	11
1. Définition	11
2. Élément cadmium	12
3. Toxicité du cadmium et son effet sur la santé humaine.....	12
4. Effet du cadmium sur la croissance	12
5. Influence du cadmium sur l'absorption et le transport d'eau	13
6. Phytotoxicité du cadmium Chez les plantes :	13
7. Tolérance de la plante aux cadmiums.....	14
IV. STRESS CHEZ LES VEGETAUX	14
1. Définition du stress	14
2. Formes de stress.....	15
a) Biotique.....	15

b) Abiotique	15
3. Effet du stress salin sur les plantes	16
a) Germination	16
b) Croissance et le développement de la plantule	16
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	18
I. Matériel végétal.....	18
II. Méthode d'étude	18
1. Site de l'essai.....	18
2. Préparation des boîtes de pétri.....	19
III. Paramètres étudiés.....	19
1. Taux de germination	19
2. Vitesse moyenne de germination	19
3. Cinétique de la germination.....	19
IV. Effet du stress abiotique sur la croissance.....	20
1. Mise en culture	20
2. Récolte des plantes.....	21
3. Détermination de la teneur en proline dans les feuilles	21
a. Objectif	21
b. Principe	21
c. Protocole	21
4. DOSAGE DE LA CHLOROPHYLLE.....	22
V. Résultats et discussions	22
1. Taux de germination	22
2. Vitesse moyenne de germination	23
3. Cinétique de germination.....	24
4. Détermination de la teneur en proline contenue dans les feuilles des plantes régénérées...26	
5. DOSAGE DE LA CHLOROPHYLLE	27
Références bibliographiques	29

Résumé

Notre travail se repose sur l'étude de l'effet du stress salin combiné avec le stress cadmium lors de la germination et la croissance sur le comportement de quatre variétés d'orge (Massine, laanaceur, amira, adrar).

L'étude a été réalisée dans un incubateur à 22 °C. Les graines ont été mises à germer dans des boîtes à pétris puis transférées dans l'hydroponie à des concentrations différentes de sel et cadmium.

L'étude a montré que le sel et le cadmium ont un effet et les plantes ont réagi vis à vis de ce stress, l'effet dépend de la variété et de l'intensité du stress.

Mots clés : stress combiné, germination, croissance.

Introduction

La principale origine d'une contamination de notre environnement par les métaux lourds est l'activité industrielle qui est strictement croissante, sachant que les métaux lourds ne se dégradent pas ainsi que leur concentration augmente sans cesse dans les sols et les eaux, les plantes sont exposées à des concentrations qui ne sont pas négligeables.

Sans compter la toxicité des métaux lourds sur les plantes, ils ont un risque toxique pour l'Homme, cela dépend de la teneur en cadmium dans le sol, et son accumulation sur la plante, il est important de produire de variétés qui accumulent des teneurs en métaux lourds réduites, afin de minimiser le risque

La salinité élevée cause plusieurs types de stress y compris le stress ionique qui a son rôle entraîne l'altération de l'absorption des éléments nutritifs en particulier K^+ et Ca^{2+} d'autre part l'accumulation des ions indésirables en particulier Na^+ qui cause des effets sur la croissance et le développement de la plante ainsi cause des troubles biochimiques et au niveau moléculaire (Bray, 1997 ; Ingram and Bartels, 1996).

Dans le cadre de cette approche et afin de tester la tolérance de variétés d'orge marocaines à différents types de stress (salin et cadmium). Nous nous sommes intéressés à cette plante grâce à ses propriétés économiques et écologiques, sachant que les céréales représentent 80 à 90% de la superficie cultivée du Maroc.

Le manuscrit de ce travail va être présenté en trois grandes parties :

- La première partie va consister en une étude bibliographique sur les céréales et spécifiquement l'orge marocaine, un aperçu sur les métaux lourds et la toxicité du cadmium et le stress abiotique des plantes.
- La deuxième partie va décrire le matériel biologique et les méthodes utilisés dans l'ensemble des expériences.
- La troisième partie consistera en une présentation des résultats obtenus, leurs discussions et une conclusion finale.

Chapitre 1 : Etude bibliographique

I. Généralités sur les céréales

Le développement du secteur agricole au Maroc a pour but d'augmenter la production pour atteindre l'autosuffisance alimentaire, les céréales constituent la production stratégique la plus importante pour le Maroc qui consacre chaque année près de 80% à 90% de la superficie cultivée. L'augmentation de la population impose une politique claire et ferme, le plus grand axe de cette dernière est : L'opération intégrée qui débute en 1981 qui vise l'augmentation des rendements des céréaliers comme le blé tendre irrigué et du maïs, ainsi que l'orge.

Les céréales traditionnelles comme le blé dur et l'orge tendent à régresser au profit du blé tendre ; cependant l'orge reste la première céréale cultivée au Maroc avec près de 40% de la production en 1993-94 et plus de 2 millions d'hectares emblavés.

Au niveau mondiale les caractères généraux des céréales sont :

Le blé vient en tête avec 227 millions d'hectares et 3 300 millions de quintaux. Les principaux producteurs sont : l'Europe avec 730 millions de quintaux (près du 1/4 de la production mondiale), l'U.R.S.S. avec plus de 930 millions de quintaux (1/4 de la production mondiale) et les U.S.A. avec 430 millions de quintaux (1/7 de la production mondiale). On notera que les six pays de la CEE, Communauté économique européenne (l'Allemagne, la Belgique, la France, l'Italie, Luxembourg et Pays-Bas) totalisaient en 1968, 323 millions de quintaux, les plaçant au troisième rang des producteurs mondiaux. Par rapport à 1938, on note une augmentation de 25 % des surfaces et 84 de la production.

Le riz vient au second rang avec 130 millions d'hectares et 2 840 millions de quintaux. Les surfaces et la production sont en très nette augmentation (53 et 87 respectivement).

Le maïs, avec 103 millions d'hectares et 2,5 milliards de quintaux, vient sensiblement au même rang que le riz mais accuse un taux d'accroissement de la production plus considérable encore. Pratiquement la production du maïs a plus que doublé en 25 ans. Cet accroissement est lié principalement à l'apparition d'un type nouveau et beaucoup plus productif de variétés, les « maïs-hybrides ».

L'orge : Depuis 1964 la production mondiale d'orge a atteint le milliard de quintaux (avec l'URSS). Comme pour le maïs, celle-ci a plus que doublé en 25 ans ; l'accroissement des surfaces (+53 %) et celui des rendements (+43 %) y ont parallèlement contribué.

L'avoine : Au 6e rang des surfaces et de la production la culture de l'avoine est en nette régression dans la majorité des pays. Il en est de même du seigle (7e rang).

II. Orge (*Hordeum vulgare*)

1. Classification

D'après **Chadefaud et Emberger (1960), Prats (1960) et Feillet (2000), (in Souilah 2009)** l'orge cultivée appartient à la classification botanique suivante :

- ❖ Règne : Plantae
- ❖ Division : Magnoliophyta
- ❖ Classe : Liliopsida
- ❖ Sous classe : Commelinidae
- ❖ Ordre : Poales
- ❖ Famille : Poaceae
- ❖ Sous famille : Hordeoideae
- ❖ Tribu : Hordeae
- ❖ Sous tribu : Hordeinae
- ❖ Genre : *Hordeum*
- ❖ Espèce : *Hordeum vulgare L*

2. Position géographique et production de l'orge au Maroc

En 1976, le Maroc arrive à bien se positionner pour l'orge en tête des pays africains et européens sauf l'Espagne. Les provinces les plus importantes en termes de production sont celles de Marrakech, El Kelaa, Safi, Settat et El Jadida et il est aussi dominant dans le Maroc atlantique le Haouz, les Sraghna et les Doukkala.

Jouve P. et Papy F., (1983) ont constaté que la culture de l'orge est favorable dans les zones où la réserve en eau est très limitée ce qui explique sa résistance contre la sécheresse.

3. Description botanique

a. Appareil végétatif

Les graminées sont des plantes herbacées de petite taille, la plante se développe en produisant un certain nombre d'unités : les talles.

b. Système racinaire

Il est de type fasciculé, composé de deux systèmes qui se forment au cours de développement

- Un système primaire ou séminal s'étalant de la germination à la ramification de la plantule « tallage »
- Un système secondaire ou aussi appelé système de racines coronaires apparaît au moment où la plante se ramifie « tallage »

c. Système aérien

✚ La tige

Sur la partie aérienne des céréales, on distingue une tige principale « *le maître brin* » et des tiges secondaires « *les talles* » qui naissent à la base de la plante (Gonde et Jussiaux, 1980, Boulalet *al.*, 2007 ; Kellil, 2010). Quant aux entre-nœuds et selon Belaid (1996), ils sont creux chez les blés tendres, l'orge et l'avoine, et pleines chez les blés durs.

L'orge est caractérisée par un fort tallage supérieur à celui du blé et un chaume plus faible, susceptible à la verse par rapport que celui du blé (Camille, 1980).

✚ Les feuilles

Sont à nervures parallèles et formées de deux parties : la partie inférieure entourant la jeune pousse ou la tige : c'est la *gaine*, la partie supérieure en forme de lame : c'est le *limbe* qui possède à sa base deux prolongements arqués glabre, embrassant plus ou moins complètement la tige ; les *oreillettes ou stipules*. A la soudure du limbe et de la gaine se trouve une membrane non vasculaire entourant, en partie, le chaume : la ligule qui est bien développée (Belaid, 1996 et Camille, 1980).

✚ L'appareil reproducteur

L'orge est autogame. Son inflorescence est un épi composé d'unités morphologiques de base : les *épillets* « groupes de fleurs » enveloppées de leurs glumelles et incluses dans deux bractées ; les glumes (Belaid, 1996).

✚ Le grain

Le fruit des graminées est un caryopse où le grain est soudé aux parois de l'ovaire, c'est un fruit sec indéhiscent. Chez l'orge le grain est vêtu ; le péricarpe du grain se soude aux glumelles (Belaid, 1996).

4. Besoins agroécologiques

a. Sol

Les blés et les orges exigent sur une gamme assez variée de sols. L'optimum semble être des terres neutres profondes et de texture équilibrée (Simon et *al.*, 1989). Les moins bonnes sont les terres très argileuses, mal drainées, les terres très calcaires et les terres trop sableuses, acides (Soltner, 1990).

b. Eau

Les exigences en eau sont légèrement plus réduites et surtout importantes au début de la végétation : l'orge est une céréale plus précoce que le blé, ce qui explique que sa culture s'est bien développée dans les régions à printemps sec (Soltner, 1990). Selon Simon et *al.*, (1989) les besoins globaux sont estimés à 450-500 mm pour une production de 40 quintaux.

c. Température

Le zéro de germination de l'orge est 0°C. L'orge est plus sensible au froid que le blé. Selon la sensibilité variétale, le seuil thermique de mortalité varie entre -12°C et -16°C (Simon et *al.*, 1989).

d. Photopériode

L'orge est adaptée aux jours longs. La durée d'éclairement doit être environ de 12 heures pour que l'épi commence à monter dans la tige (Simon * et *al.*, 1989).

5. Cycle de développement

Les graminées sont des espèces annuelles. Selon Soltner, (2005), Prats et Grandcourt, (1971) Hadria (2006) et ; Bellebcir, (2008), une série d'étapes, séparées par des stades repères, permettant de diviser le cycle de vie des céréales en deux périodes principales. Il s'agit :

- La période végétative : comportant la germination, la levée et le tallage.
- La période reproductive : comportant la montaison, l'épiaison, la floraison (qui se développent elle-même en deux stades : stade laiteux et stade pâteux) et la maturité complète.

III. Métaux lourds

1. Définition

Les métaux lourds sont connus par leurs toxicités. Certains d'entre eux sont des oligo-éléments (Fe, Zn, Cu...), d'autres sont des métalloïdes (Se, As) ou qu'ils ne sont pas lourds

(Be, Al) (Anne et Isabelle, 2005), selon les chimistes se sont des éléments chimiques avec numéro atomique élevé et de densité supérieure à 5g/cm³.

2. Élément cadmium

Le cadmium est un métal blanc argenté avec des teintes de bleu, il appartient 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 très souvent associé dans les roches aux éléments du même groupe, comme le zinc et le mercure. La valence Cd²⁺ est la valence la plus souvent rencontrée dans l'environnement et c'est la seule valence du cadmium qui se trouve dans le système aqueux (McLaughlin et Singh, 1999).

Le cadmium n'est pas nécessaire 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.

3. Toxicité du cadmium et son effet sur la santé humaine

Le cadmium est considéré comme un métal lourd toxique pour les organismes vivants et il est considéré comme un polluant pour l'environnement. Cette toxicité est due au fait qu'il est non biodégradable, il est toxique seulement à faible concentration donc il s'accumule dans les organismes vivants. Il est surtout 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).

4. 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 la production de la biomasse. Ces effets sont liés 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 hyper tolérantes sont aussi hyper accumulatrices de cadmium. Bien que l'hyper accumulation nécessite la tolérance, une relation simple entre la tolérance et l'hyper accumulation 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.

5. Influence du cadmium sur l'absorption et le transport d'eau

Le cadmium affecte l'absorption de l'eau, son transport ainsi que la transpiration (Barcelo *et al.*, 1986 ; Costa *et al.*, 1994 ; Vassilev *et al.*, 1997). Ces perturbations hydriques se manifestent par une diminution de la teneur relative en eau (TRE ou RWC : Relative Water Content), du potentiel hydrique (ψ) et aussi du potentiel de turgescence foliaire (Vassilev et Yordanov, 1997). Barcelo *et al.* (1988) et Marchiol *et al.* (1996) suggèrent que le transport d'eau diminue de deux à quatre fois selon l'espèce et la concentration du cadmium. Barcelo *et al.* (1988) ont considéré que cette diminution est due principalement à l'inhibition de la division et de l'élongation des cellules xylémiques. Ces auteurs ont constaté que ceci est une conséquence des perturbations de l'équilibre hormonal causées par le cadmium.

6. 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, 2005 ; Clemens, 2006).

7. Tolérance de la plante aux cadmiums

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 inférieure à celle que l'on peut observer dans le sol. Cependant, chez les plantes accumulatrices ou hyper accumulatrices la concentration du cadmium dans la plante est supérieure à celle que l'on peut observer dans le sol (Bourrelier et Berthelin, 1998). Les plantes ont mis 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).

IV. STRESS CHEZ LES VEGETAUX

1. Définition du stress

Le stress dans son aspect physique, est défini par une contrainte qui peut se résumer à une ou plusieurs force (s) de déformation appliquée (s) à un corps. Cette contrainte modifie les dimensions et la forme du corps exposé traduisant sa tension intérieure. A la différence d'un stress physique, un stress biologique n'est pas une force à proprement parler et est associé dans le langage commun à une agression possiblement irréversible et donc une déformation plastique du corps exposé (LEVITT, 1980). Selon le même auteur, deux types de déformation existent :

- La déformation élastique impliquant une modification réversible.
- La déformation plastique provoquant une modification irréversible. Jusqu'à un certain point, dépendant du corps en question, toute action d'un stress sera réversible et élastique. Au-delà, la tension provoquée par le stress provoquera des changements irréversibles et plastiques.

Par analogie à la physiologie des plantes, une contrainte environnementale va provoquer

une tension interne dans l'organisme exposé. Le stress perçu par une plante, cela veut dire que le niveau de tension interne, dépend de la résistance de l'organisme à un type de stress appliqué avec une certaine intensité. En plus du type de stress et de son intensité, il faut également considérer la durée d'exposition. En effet, si l'intensité d'un stress est trop faible pour provoquer des dommages irréversibles à court terme, à long terme, ce stress peut provoquer des changements plastiques, voire la mort de l'organisme (LEVITT, 1980 ; LICHENTHALER, 1996). Selon DUTUIT et *al* (1994), le stress est le dysfonctionnement (rupture d'un équilibre fonctionnel) produit dans un organisme ou dans un système vivant, par exemple par une carence.

2. Formes de stress

a) Biotique

Il est imposé par d'autres organismes vivants (insectes, herbivores...). Afin d'y faire face, la plante met en place un système de défense qui fait intervenir une chaîne de réactions. Les protéines végétales défensives produites font office de rempart contre les agents nuisibles (Shilpi et Narendra, 2005).

b) Abiotique

Il est provoqué par un défaut ou excès de l'environnement physico-chimique comme la sécheresse, les températures, la salinité, la présence d'un minéral inadéquat dans le sol, cas des métaux lourds et ce sont les stress les plus fréquents et les plus étudiés. Ils peuvent imposer aux plantes des modifications métaboliques, physiologiques et phénologiques. Le stress peut déclencher plusieurs réponses à plusieurs niveaux de la plante (Shilpi et Narendra, 2005).

Ces mêmes auteurs précisent que, les conséquences d'un stress salin peuvent résulter de trois types d'effets que le sel provoque chez les plantes :

▪ Stress hydrique

Une forte concentration saline dans le sol est traduit par la plante comme une forte diminution de la disponibilité en eau. Cela nécessite un ajustement osmotique adapté, afin que le potentiel hydrique cellulaire demeure inférieur à celui du milieu extracellulaire et à celui du sol. Ce phénomène assure d'une part, la poursuite de l'absorption de l'eau du sol, et d'autre part, la rétention de l'eau intracellulaire et le maintien de la turgescence.

Lorsque l'ajustement osmotique n'est pas suffisant, l'eau a tendance à quitter les cellules, ce qui provoque un déficit hydrique et la perte de la turgescence.

▪ Stress ionique

La toxicité ionique survient lorsque l'accumulation de sels dans les tissus perturbe l'activité

métabolique.

▪ **Stress nutritionnel**

Des concentrations salines trop fortes dans le milieu, provoquent une altération de la nutrition minérale, en particulier vis-à-vis des transporteurs ioniques cellulaires. Le sodium entre en compétition avec le potassium et le calcium, et le chlorure avec le nitrate, le phosphore et le sulfate.

▪ **Stress salin**

Le stress salin est un excès d'ions en particulier mais pas exclusivement aux ions Na⁺ et Cl⁻ (Hopkins, 2003). Le stress salin est dû à la présence de quantités importantes de sels dans le milieu. Il réduit fortement la disponibilité de l'eau pour les plantes, on parle alors de milieu "physiologiquement sec" (Tremblin, 2000).

La quantité de sels dans le sol que les plantes peuvent supporter, sans grand dommage pour leur culture, varie avec les familles, les genres et les espèces, mais aussi les variétés considérées (Levigneron et *al.*, 1995).

3. Effet du stress salin sur les plantes

a) Germination

La germination des graines est une étape importante et vulnérable pour le cycle de développement. La réponse des graines à la salinité est un indicateur de la tolérance de la plante, durant les étapes postérieures de développement (Flower, 2004).

La germination est régulée par les caractéristiques génotypiques, les conditions environnementales et en particulier la disponibilité de l'eau et du sel dans le sol (Gutterman, 1993).

L'effet du stress salin sur la germination peut être attribué soit à un effet osmotique et/ou une toxicité des ions spécifiques à l'émergence de la racine ou le développement des semis (Abdelkader et *al.*, 2015).

Le stress salin peut affecter la germination de deux façons :

- En diminuant la vitesse d'entrée et la quantité d'eau absorbée par les graines.
- En augmentant la pénétration d'ions qui peuvent s'accumuler dans les graines à des doses qui deviennent toxiques.

b) Croissance et le développement de la plantule

L'exposition des plantes au stress salin conduit au nanisme. La salinité affecte fortement la croissance et la morphologie des racines, les différentes réponses aux niveaux physiologiques, biochimiques et moléculaires sont détectées, même dans les différentes zones racinaires (Sharp

et *al.*, 2004). Ces changements dans le système racinaire vont causer un changement dans le bilan hydrique, ionique et la production de signaux (hormones) qui communiquent des informations à la tige (Munns et *al.*, 2000). Les feuilles deviennent sclérosées avant même d'avoir fini leur croissance et l'organisme tout entier risque de dépérir assez vite (Calu, 2006).

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

I. Matériel végétal

Pour cette expérience le matériel végétal utilisé a été obtenu à partir de semences d'orge marocain qui sont inscrit dans le catalogue national, quatre variétés (Massine, Laanacer, Amira et Adrar) ont été sélectionnées parmi neufs variétés (TAFFA, ADRAR, LAANACER, FIRDAWS, AMIRA, AMALOU, MASSINE, TAMELLALET, OUSSAMA) en fonction de leurs capacité de germination ainsi que leurs taux de germination qui a dépassé 99% pour ces quatre variétés qui l'a rendu capable confronter le stress et voire sa réaction vis-à-vis a ce dernier , la deuxième étape c'est de réaliser une culture hydroponique pour appliquer un stress cadmium et salin pour voir la tolérance de la plante aux différents concentrations de sel et cadmium.

II. Méthode d'étude

1. Site de l'essai

L'étude a été réalisée dans la serre du Laboratoire de Ressources Naturelles et Environnement (RNE) à la Faculté Polydisciplinaire de TAZA



Figure 1: Laboratoire de tests et recherches

2. Préparation des boîtes de pétri

Les graines sont dépoussiérées et désinfectées à l'eau de Javel 10% pendant 5 min puis rincées à l'eau distillée trois fois pour éliminer toute traces d'eau de javel. Les quatre variétés choisies ont été mises à germer dans des boîtes de pétris tapissées de trois papiers filtre, puis 10 ml d'eau distillé ont été ajoutés pour le témoin et 10 ml de solution de cadmium (CdCl_2) à trois concentrations 100 ,200 et 400 μM pour chaque variété avec trois répétitions pour chaque traitement. Vingt graines qui ont la même taille ont été mises par boîte puis mises dans un incubateur à 22°C pendant six jours afin de suivre la germination de façon journalière.



Figure 2. Boîtes de pétri de la germination dans l'incubateur à 22 °C

III. Paramètres étudiés

1. Taux de germination

Le taux de germination est exprimé par le nombre de graines germé au dernier jour sur le nombre total de graines :

$$G\% = (N/NT) * 100$$

N : est le nombre de graines germés

NT : est le nombre total de graines mises à germer

2. Vitesse moyenne de germination

La vitesse de germination permet d'exprimer l'énergie responsable de l'épuisement des réserves de la graine, pour le calcul elle est exprimée par le rapport entre le nombre des grains germés chaque jour et le nombre des jours de l'essai.

$$IG = 1*(N_1) + 1/2*(N_2 - N_1) + 1/3*(N_3 - N_2) + \dots + 1/n*(N_n - N_{n-1})$$

- IG : le nombre des graines germées pendant les jours de l'essai.

- n : le nombre des jours de l'essai (1, 2, 3, n-1, n).

3. Cinétique de la germination

Il s'agit de calculer chaque jour la vitesse de germination sous les différentes concentrations de salinité. Elle est exprimée par le nombre de graines germées à 24, 48, 72, 96, 120 et 144h, après le début de l'expérience. C'est un paramètre permet de suivre le comportement germinatif des variétés étudiées ainsi que l'ensemble des étapes qui commencent par l'absorption de l'eau par la graine et se terminent par l'élongation de l'axe embryonnaire et l'émergence de la racicule.

IV. Effet du stress abiotique sur la croissance

1. Mise en culture

Les expériences ont été réalisés dans une serre climatisée a température de 25°C avec un rayonnement efficace. Les graines de quatre variétés d'orge marocain ont été placées sur du papier filtre imbibés a l'eau distillé pendant 5 jours.

La composition du milieu de culture est détaillé dans le tableau(annexe), après 5 jours les plantules ont été transférés sur des flotteurs placés dans des bassins contenant 12L de solution nutritive (9 plantules par bassin),au total on obtient 2 bassins le premier c'est le témoin le deuxième pour le traitement cadmium , 7 jours après transfert des plantules d'orge sur le système hydroponique ,les traitements cadmium ont été réalisés à des concentrations finales entre 20µMde CdCl₂ et 150 mM de NaCl ,le bassin témoin dont les plantes ont été cultivées en absence des traitements cadmium et NaCl.

Afin d'homogénéiser les conditions de culture, la solution nutritive a été changée tous les 4 jours durant toute la durée de l'expérience.



Figure 3:Le bassin témoin



Figure 4:Le bassin traité de sel et cadmium

2. Récolte des plantes

Après 21 jours, les plantes ont été récoltées, les parties aériennes ont été séparées des parties souterraines, et pour éliminer le cadmium et le sel non absorbé par la plante, les racines ont été lavées 3 fois par l'eau distillée, puis soigneusement essorées entre deux couches de papier absorbant.

Pour calculer la biomasse, la matière fraîche des parties aériennes et celle des souterraines a été pesée immédiatement après la récolte. Les échantillons ont été placés dans du papier aluminium et ont été soumis à l'étuve pendant 48h à 65°C, puis la matière sèche des échantillons a été pesée.

3. Détermination de la teneur en proline dans les feuilles

a. Objectif

L'accumulation de la proline dans les feuilles, les tiges et les racines est considérée comme une des réponses induites les plus répandues en cas de stress, ce qui en fait un excellent détecteur de stress. L'accumulation de la proline dépend du type et de l'intensité du stress.

b. Principe

La ninhydrine réagit avec les acides aminés en donnant un chromophore acides aminés-ninhydrine. Cependant pour la proline la fonction imine fournit une teinte rouge rosé qui présente un maximum d'absorption à 520 nm (**méthode de Bates, 1973**).

c. Protocole

200mg de feuilles a été pesée, broyé avec 5 ml de l'acide sulfosalicylique 3%, puis l'extrait a été centrifugé pendant 5min 12000 t/m.

2ml de surnageant a été récupéré avec 2ml de ninhydrine et 2ml d'acide acétique glacial.

2ml d'acide sulfosalicylique, 2ml de ninhydrine et 2ml d'acide acétique glacial ont été ajoutés pour le blanc.

Laissés 1h au bain marie à 94°C, les tubes ont été mis dans de la glace pendant 5min, afin de stopper la réaction.

L'absorbance est lue à 520nm

La concentration de proline a été déterminée à partir de la courbe standard et calculée sur la base du poids frais (mg/g de poids frais).

La quantité de proline est calculée par :

$Q \text{ proline mg/gMF} = A \cdot V / MF \cdot K$ ou $Q \text{ proline mg/gMS} = A \cdot V / MS \cdot K$

A : absorbance de l'échantillon

V : volume du filtrat en ml

K : pente de la gamme étalon $A=f(\mu\text{g proline})$

MF : masse de matière fraîche en mg

MS : masse de matière sèche en mg (avec $MS = MF/(1+TE)$)

4. DOSAGE DE LA CHLOROPHYLLE

Le pigment chlorophyllien a été extrait à partir de 20 mg de feuille fraîche, 1,4 ml de Dimethylsulfoxyde (DMSO) a été ajouté dans le tube et été incubée à 65 degrés C pendant 60 min, après 0,6 ml de DMSO a été ajouté. L'extrait est mesuré spectromètre à 663, 645 et 470 Les concentrations de la chlorophylle a, de la chlorophylle b et de la chlorophylle totale sont calculées selon les formules suivantes (Arnon 1949 ; Hiscox et Israelstam, 1979) :

- Chlorophylle a (mg/g MF) $= [(12.7 * A_{663.2}) - (2.69 * A_{645})] * V/M$
- Chlorophylle b (mg/g MF) $= [(22.9 * A_{645}) - (4.68 * A_{663})] * V/M$
- Chlorophylle total (mg/g MF) $= [(20.08 * A_{645}) + (8.02 * A_{663})] * V/M$
- Caroténoïdes et xanthophylles
- (mg/g MF) $= [(1000 * A_{470}) - (1.90 * \text{chl} a) - (63.14 * \text{chl} b)] / 214 * V/M$

V. Résultats et discussions

1. Taux de germination

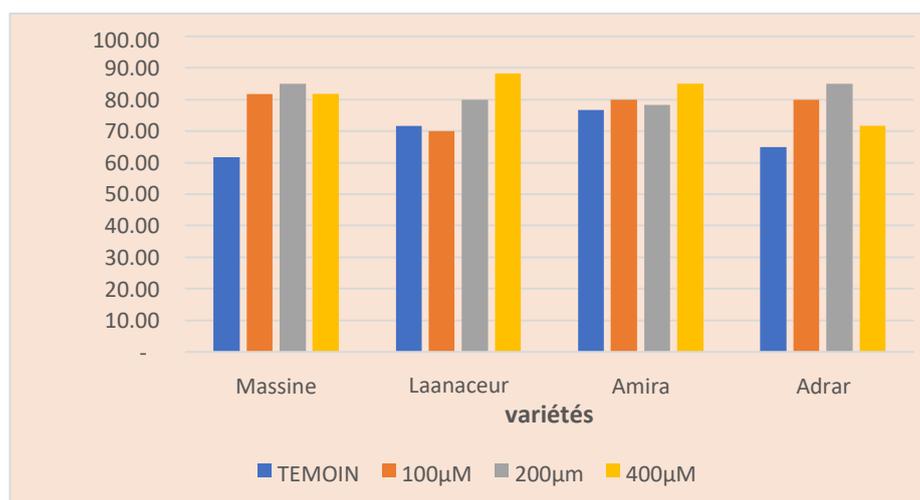


Figure 5: Variation du taux de germination, des différentes variétés de l'orge, en fonction de traitement cadmium.

La figure 5 représente le taux de germination en fonction de différentes concentrations de cadmium afin de voir le comportement des grains de quatre variétés (Massine, Laanaceur, Amira et Adrar), par rapport au témoin.

La figure 1 montre, quelle que soit la variété, la capacité germinative des graines traitées augmente comparativement au témoin et ceci pour les trois concentrations utilisées.

Il est à signaler que les variétés Massine, Laanaceur et Amira ont germé d'une manière progressive par rapport au témoin contrairement à la variété Adrar qui a diminué à la concentration 400 μ M et qui s'exprime par le comportement sensible de cette variété, la variété adrar est classé parmi les variétés sensibles de l'orge.

Il est à constater aussi que la variété Laanaceur a montré une augmentation importante sur le taux de germination qui a pu atteindre jusqu'à 88,33% pour 400 μ M, ce qui nous permet de constater que cette dernière est tolérante.

En se basant sur l'ensemble des résultats obtenus on constate que le cadmium à très faibles concentrations favorise la germination, qui s'explique par une amélioration de l'assimilation de la composition minérale aussi induit à la formation de méristèmes plus ou moins différenciés, on peut aussi ajouter qu'il y'a des barrières tégumentaires qui vont empêcher une forte accumulation du cadmium dans la graine, cela permet de conclure que le cadmium n'affecte pas négativement le processus de la germination.

2. Vitesse moyenne de germination



Figure 6: Effets de différentes concentrations de cadmium sur la vitesse de germination sur des variétés de l'orge étudiées

La figure 6 présente la vitesse moyenne de germination en fonction de différentes concentrations (100,200 et 400 μ M).

On constate qu'il y'a une augmentation successive de la vitesse moyenne sauf pour la variété Adrar qui a diminué à la dernière concentration (400 μ M), ce qui a été le cas pour le taux de

germination aussi, qui est due à la sensibilité de cette dernière

3. Cinétique de germination

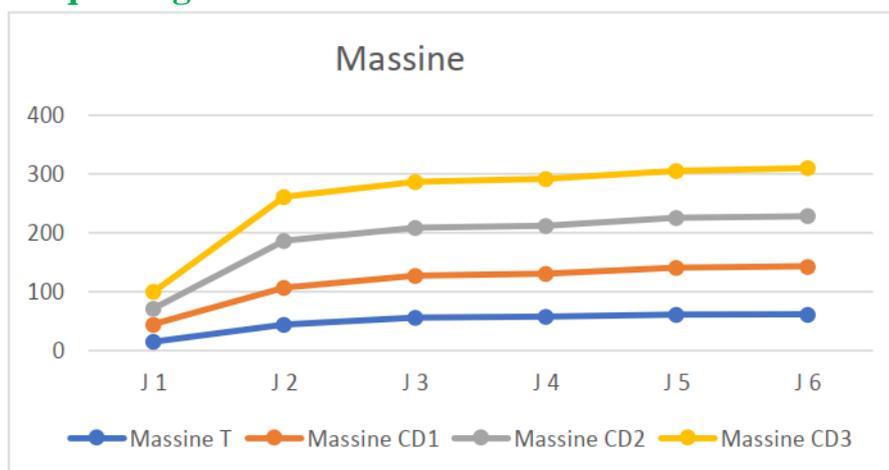


Figure 7: Effets de différentes concentrations de cadmium sur la cinétique de germination de la variété Massine

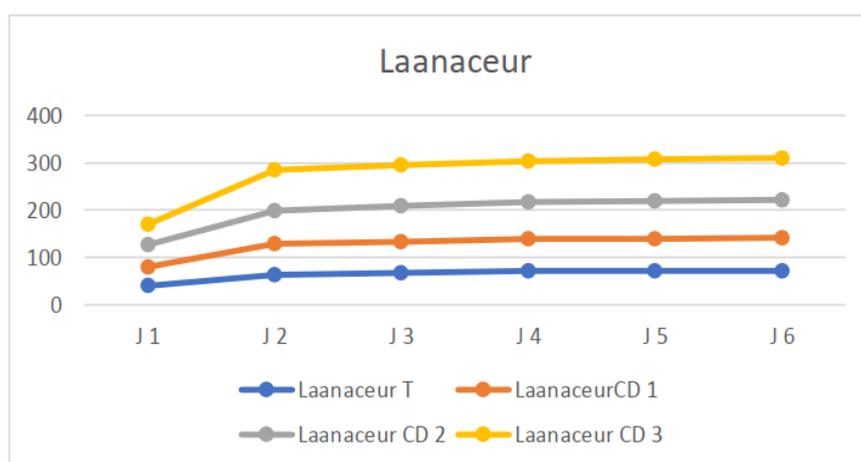


Figure 8: Effets de différentes concentrations de cadmium sur la cinétique de germination de la variété Laanaceur

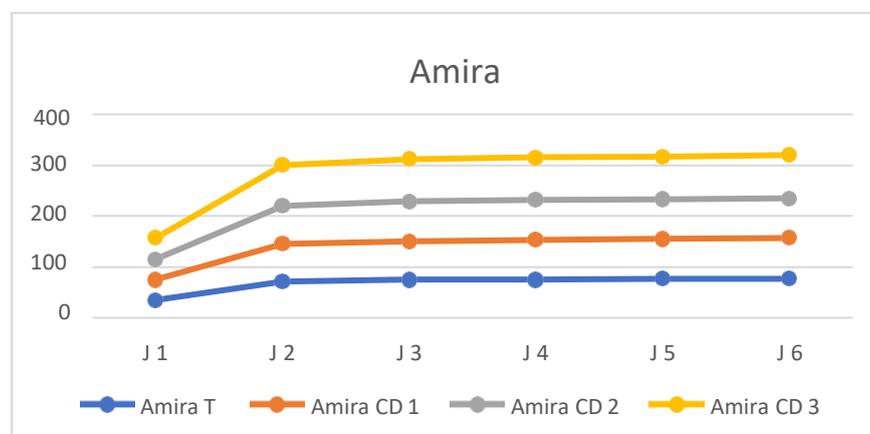


Figure 9: Effets de différentes concentrations de cadmium sur la cinétique de germination de la variété Amira

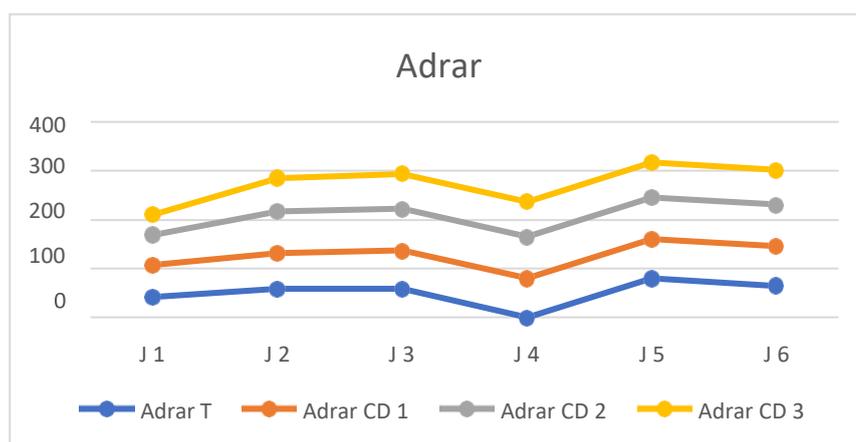


Figure 10: Effets de différentes concentrations de cadmium sur la cinétique de germination de la variété Adrar

Les figures 7,8,9 et 10 présentent l'évolution de la germination des 4 variétés de l'orge en fonction du temps pour l'ensemble des traitements. Les résultats montrent que les courbes relatives aux taux de germination des graines traitées sont situées en dessous de celles des courbes témoins et se stabilise généralement au quatrième jour.

Avec **CD1** :100µM **CD2** :200µM **CD3** :400µM

Les courbes de germination permettent de distinguer 3 phases :

- Une phase de latence, nécessaire à l'apparition des premières germinations, au cours de laquelle le taux de germination reste faible. La durée de cette phase est variable selon la concentration de cadmium
- Une phase sensiblement linéaire, correspondant à une augmentation rapide du taux de germination qui évolue proportionnellement au temps. Pour la concentration de 400µM, cette phase est très développée, ce qui explique le taux de germination important dû à l'effet positive du cadmium sur la germination
- Une troisième phase représentant le pourcentage final de germination et traduisant la capacité germinative de chaque variété et pour chaque concentration. Il paraît que cette capacité germinative augmente pour toutes les variétés étudiées mais avec des degrés différents, selon l'espèce et le traitement appliqué.

On remarque pour la variété Adrar a vécu une chute aux quatrième jours cela s'explique par l'épuisement de la solution du cadmium et elle a été renouvelée le jour même, la germination a été arrêté puis elle a repris au cinquième jour, en ajoutant que cette variété est sensible elle a vite réagi vis-à-vis à ce changement de solution.

4. Détermination de la teneur en proline contenue dans les feuilles des plantes régénérées

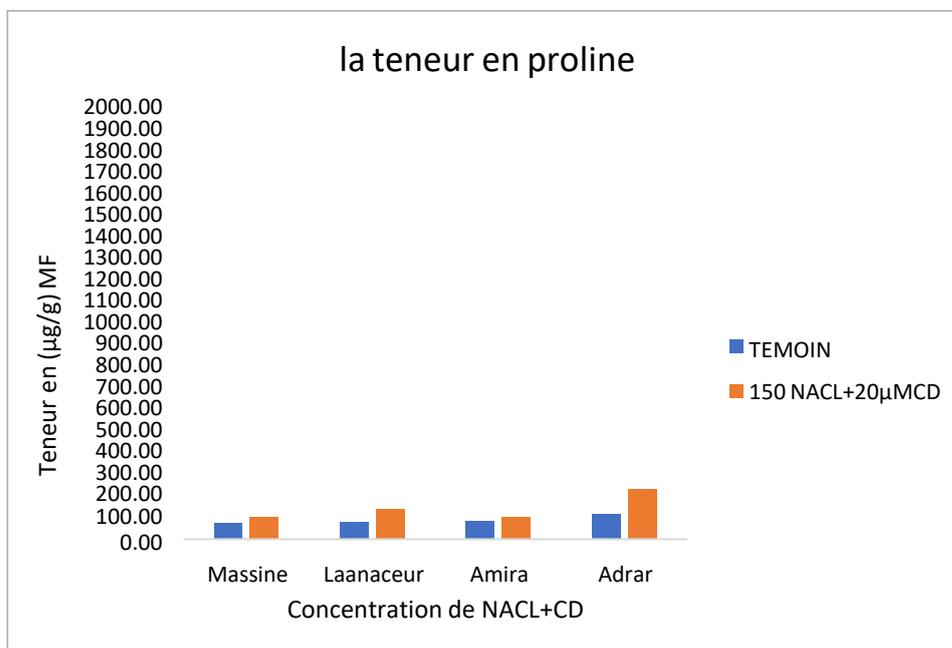


Figure 11: Concentration en proline contenue dans les feuilles de l'orge prélevées sur des pousses régénérées sur milieu MS contenant différentes concentrations de NaCl et cadmium.

L'effet du cadmium et du sel sur la synthèse de la proline dans les feuilles des plantes d'orge est représenté dans la figure 11.



Figure 12: dosage de proline qui donne une coloration rouge rosée

Nous remarquons que les concentrations de la proline augmente dans les feuilles des plantes traités d'une manière statistique par rapport a celle des feuilles des plantes témoins. On remarque aussi que la concentration de la proline est importante chez la variété Adrar par rapport aux autres variétés qui ont des concentrations en proline mois importantes et cela on peut le distinguer aussi par la coloration rosée qui va être claire dans les variétés moins concentrées en proline et plus foncé pour les variétés les plus concentré en proline comme la

photo l'indique (figure 12).

5. DOSAGE DE LA CHLOROPHYLLE

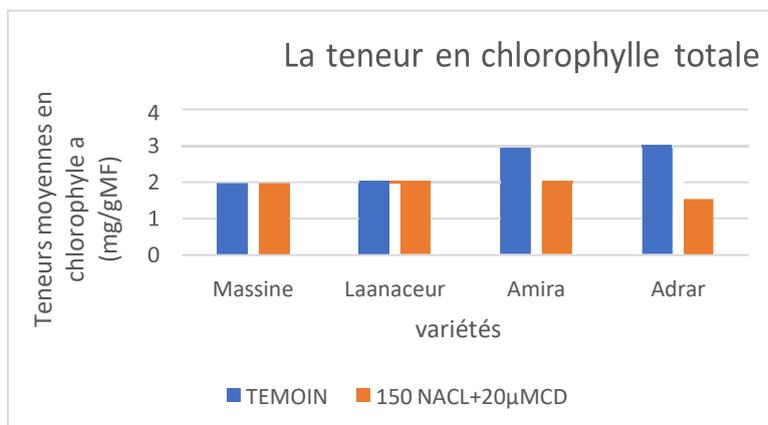


Figure 13: effet du cadmium et sel sur la biosynthèse des chlorophylles et caroténoïdes dans les feuilles de l'orge

La figure 13 représente l'influence du cadmium et sel sur la synthèse de la chlorophylle (a et b) et caroténoïdes au niveau des feuilles des plantes d'orge.

Une baisse importante a été remarqué chez la variété Adrar de la teneur en chlorophylle par rapport au témoin, ainsi qu'une baisse moins importante pour les autres variétés ce qui justifie qu'elles sont tolérantes à des concentrations de 150 mM de NaCl et 20 μM de cadmium.

D'après ces résultats on constate que le cadmium et le sel diminuent la teneur en pigments photosynthétiques.

Conclusion

L'influence de cadmium sur le taux de germination des quatre variétés étudiées (Massine, Laanaceur, Amira et Adrar) et les résultats obtenus nous permettent de tirer les conclusions suivantes :

- Dans l'essai de germination, les résultats ont montré que l'effet de cadmium sur les paramètres germinatifs s'est manifesté par une augmentation d'autant importante que la dose de cadmium augmente (mais la dose la plus forte est de 400 μ M)
- La dose la plus affectant la germination c'est la concentration la plus forte (400 μ M), la variété la plus tolérante durant ce stade est la variété Laanaceur et la plus sensible est la variété Adrar

On a trouvé aussi, dans cette étude, que la réponse de l'orge vis-à-vis de la salinité et cadmium est variée selon la variété et l'intensité du stress, L'effet de la concentration de NaCl+ CaCl₂ à sur les comportements biochimiques : a été évalué à travers l'analyse des variations des teneurs en proline et teneur en chlorophylle Ces composés sont admis comme étant des marqueurs biochimiques de la résistance aux stress abiotiques. Les résultats obtenus conduisent aux principaux points suivants :

- La tolérance à la salinité des 4 variétés soumises aux stress salins, a été marquée par l'accumulation de la proline et de teneur en chlorophylle
- L'accumulation de ces composés organiques au niveau des organes est donc un phénomène lié aux régimes salins et à l'espèce. L'étude a montré que les quatre variétés étudiées ont utilisé la même stratégie de tolérance vis-à-vis du stress abiotique. Toutefois la différence réside au niveau des teneurs en composés de synthèse ainsi qu'au niveau des organes de compartimentation de ces marqueurs biochimiques (proline et teneur en chlorophylle) : Au niveau foliaire, l'accumulation de la proline se manifeste davantage dans les feuilles avec les traitements salins et cadmium.

Références bibliographiques

ABDELLY C., 2006 : Caractérisation des halophytes pour le dessalement des sols salins et le traitement des eaux salines. Rapport d'activités 2007. Centre de biotechnologie à la technopole de Borj-Cedria, Tunisie, pp. 28- 31.

Anne T, Isabelle F (2005). Contamination des sols, transfert sol-plante des éléments traces. Ed. EDP Sciences et Academic. Paris. France.

Arduini I, Masoni A, Mariotti M, Ercoli L (2004) Low cadmium application increase *miscanthus* growth and cadmium translocation. Environ Exp Bot **52** : 89-100.

Armon D.I.1949 : Coper enzymes in isolated chloroplastes.Polyphenol-oxidases in *Beta vulgaris*-Plant Physiol.24,1-15.

Barcelo J, Ch Pochenrieder, Andreu I (1986) Cadmium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender). I. Effects of Cd on water potential, relative water content and cell wall elasticity. J Plant Physiol **125** : 17-25.

Belaid D. 1996. Aspects de la céréaliculture algérienne. INES. D'Agronomie. Batna. 187p.

Bellebcir L. 2008. Étude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales. Thèse de magister, Université Mentouri de Constantine.

Bates, 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39, 205-207.

Boulal H., El Mourid M., Rezgui S., Zeghouane O. 2007 : Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orge) dans le Maghreb.

Bourelrier PH, Berthelin J (1998) Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion. Rapport de l'Académie des sciences n°42.

Calu G., 2006. Effet du stress salin sur les plantes. Comparaison entre deux plantes modèles : *Arabidopsis thaliana* et *Thellungiella halophila*. Trends in Plant Science : 1-8.

CAMILLE M., 1980 : Céréales. Phytotechnie spéciale bases scientifiques et techniques de la production des principales espèces de grande culture en France. Maison rustique, PARIS,1980 318p.

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

Cosio C, DeSantis L, Frey B, Diallo S, Keller C (2005) Distribution of cadmium in leaves of *Thlaspi caerulescens*. J Exp Bot **56** :765-775.

Costa G, Michaut J, Morel J (1994) Influence of cadmium on water relations and gas

exchanges, in phosphorus deficient *Lupinus albus* L. Plant Physiol Biochem **32** :105-114.

Dahmani-Müller H, van Oort F, 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.

Das P, Samantaray S, Rout GR (1997) Studies on cadmium toxicity in plants : a review. Environ Pollut **98** :29-36.

De La Rosa G, Peralta-Videa JR, Montes M, Parsons JG, Cano-Aguilera I, Gardea-Torresdey JL (2004) Cadmium uptake and translocation in tumbleweed (*Salsola kali*), a potential Cd-hyper accumulator desert plant species : ICP/OES and XAS studies. Chemosphere **55** : 1159-1168.

DUTUIT P., POURRAT Y., DUTUIT J.M., 1994- La notion de stress de la cellule à l'écosystème. Sécheresse, Vol. 5, No. 1 : 23- 31.

Ebbs S, Uchil S (2008) Cadmium and zinc induced chlorosis in Indian mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern] involves preferential loss of chlorophyll *b*. Photosynthetica **46** : 49-55.

Flower, T.J. 2004. Improving crop salt tolerance. J. Exp. Bot., 55 : 307-319.

Ghnaya T, Nouairi I, Slama I, Messedi D, Grignon C, Abdelly C, Ghorbel MH (2005) Cadmium effects on growth and mineral nutrition of two halophytes : *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum*. J Plant Physiol **162** : 1133-1140.

Godt J, Scheidig F, Grosse-Siestrup C, Esche V, Brandenburg P, Reich A and Groneberg D (2006) The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. J Occup Med Toxicol **1** : 22-27.

GONDE R. et JUSSIAUX M., 1980 - Cours D'agriculture Moderne., Editions La Maison Rustique., 619 P.

Guterman Y (1993). Seed germination in desert plants adaptation of desert organisms. Berlin Springer-verlag.

Hasenstein KH, Evans ML, Stinemetz CL, Moore R, Fondren WM, Koon EC, Higby MA, Smucker AJ (1988) Comparative effectiveness of metal ions in inducing curvature of primary roots of *Zea mays*. Plant Physiol **86** : 885-889.

Hiscos, J.D.and Israelstam G.F.1979 A method for the extraction coefficients of chlorophyll from leaf tissue without maceration-Can.J.BOT.57,1332-1334.

Hopkins W.G. 2003. Physiologie végétale. 2ème édition. De Boeck, Bruscelles : 476 p.

KARMOUS C., 2007 : Contribution à l'étude des mécanismes de tolérance à la salinité au stade juvénile chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : aspects physiologiques, biochimique et moléculaire.

Thèse de doctorat en agronomie et science de la production végétale. INAT, Tunis : 211p.

KELLIL H., 2010 : Contribution à l'étude du complexe entomologique des céréales dans la région des hautes plaines de l'est algérien. Thèse magister, université Batna, pp40-43.

Levigneron A., Lopez F., Varisuyt G., Berthomien P., Casse-Delbar T. 1995. Les plantes face au stress salin. Cahier d'agriculture. (4) : 263-273

LEVITT J., 1980- Responses of plants to environmental stresses. Water radiation, salt and others stresses. Academic Press, New York, Vol. II : 365- 406.

LICHENTHALER H.K., 1996- Vegetation stress : an introduction to the stress concept in plants. Journal of Plant Physiology, Vol. 148 : 4- 14.

MAAS E. V et POSS J.A., 1989 : Salt sensitivity of wheat at different growth stages. Irrig. Sci. p29-40.

MAILLARD J., 2001 : Le point sur l'Irrigation et la salinité des sols en zone sahélienne. Risqueset recommandations. Handicap International. Novembre 2001, 34 p.

Marchiol L, Leita L, Martin M, Peterssotti A, Zerbi G (1996) Physiological responses of two soybean cultivars to cadmium. J Environ Qual **25** : 562-566.

Mazliak P., 1982. Physiologie végétale croissance et développement. Tome3 Ed. Hermann éditeurs des sciences et des arts collecte méthodes. Paris,420p.

McLaughlin MJ, Singh BR (1999) Cadmium in soils and plants, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp 273.

Mobin M, Khan NA (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.

Munns R, Guo J, Passioura JB, Cramer GR (2000). Leaf water status controls day-time but not daily rates of leaf expansion in salt-treated barley. Australian Journal of Plant Physiology **27** :949-957.

NDOUR P et DANTHU P., 2000 : Effet des contraintes hydrique et saline sur la germination de quelques acacias africain. Projet National de Semences Forestières du Sénégal. 11p.

Papy et P. Jouve 1983 (Jouve P. et Papy F., (1983). - Les systèmes de culture dans les zones semi-aride et aride du Maroc Occidental.

Richardson, A. D., Duigan, S. P., & Berlyn, G. P. (2002). An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. New phytologist, 153(1), 185-194.

Shilpi M, Narendra T (2005). Mini review : cold, salinity and droutht stresses an overview. Arch biochem, biophys 444 :139-158.

SIMON H., et al. 1989 : Produire des céréales à paille.

Soltner, D.2005. Les grandes productions végétales. 20ème.Ed. CCTA. Pp20-140.

Tang YT, Qiu RL, Zeng XW, Ying RR, Yu FM, Zhou XY (2009) Lead, zinc, cadmium hyperaccumulation and growth stimulation in *Arabidopsis paniculata* Franch. Environ Exp Bot **66** : 126-134.

Tremblin G. 2000. Comportement auto-écologique de *Halimolobos amplexicaulis* : plante pionnière des sebkhas de l'ouest algérien. Sécheresse, 11 (2) : 109-116.

Vassilev A, Yordanov I (1997) Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium-treated plants : a review. Bulg J Plant Physiol **23** : 114-133.

Vrtacnik J, Doganoc DZ, 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.

Wojcik M, Vangronsveld J, D'Haen J, Tukiendorf A (2005) Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*. II. Localization of cadmium in *Thlaspi caerulescens*. Environ Exp Bot **53** : 163-171.

Zorrig W, Rouached A, Shahzad Z, Abdely C, Davidian JC, Berthomieu P (2010) Identification of three relationships linking cadmium accumulation to cadmium tolerance and zinc and citrate accumulation in lettuce. J Plant Physiol 167 : 1239-1247.

Annexe

Tableau La solution nutritive de la culture hydroponique (sels minéraux)

Sels minéraux	Masse molaire	Solutions stock (ss)	Pesé/eau Dist.	Concentration finale	Vol.SS pour 10 L
Les macroéléments					
KH ₂ PO ₄	136.1	1000mM	136.1g/L	0.4mM	4 ml
K ₂ HPO ₄	174.2	1000mM	174.2g/L	0.2mM	2ml
CaCl ₂ , 2H ₂ O	147.01	2000mM	294.02g/L	2mM	10ml
MgSO ₄ , 7H ₂ O	246.37	500mM	123.25g/L	0.5mM	10ml
K ₂ SO ₄	174.26	500mM	87.13g/L	1mM	20ml
Les oligoéléments					
Fe-Na-EDTA	367.05	50000µM	18.35g/L	100mM	20ml
H ₃ BO ₃	61.84	28000µM	1.731g/L	14µM	5ml
MnSO ₄ , H ₂ O	169.01	10000µM	1.690g/L	5µM	5ml
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	287.5	6000µM	1.725g/L	3µM	5ml
CuSO ₄ , 5H ₂ O	249.68	1400µM	350Mg/L	0.7µM	5ml
CoCl ₂ , 6H ₂ O	237,93	200µM	47.5mg/L	0.1µM	5ml
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	1235.6	1400µM	1.729g/L	0.7µM	5ml
Source d'azote en fonction de culture choisie					
KNO ₃	101.1	2000mM	202.2g/l	2mM	10ml
Ca(NO ₃) ₂ , 4H ₂ O	236.15	1000mM	236.15g/L	0.5mM	5ml
NH ₄ NO ₃	80	2000µM	160g/L	1mM	5ml
CaCO ₃ si besoin	100.8	360mM	72.58g/2L	2mM	55.5ml