

## Analyse de la variabilité germinative de la vesce commune sous l'impact d'un stress Ferrique-Cadmique-Salin

M. KHELIFI<sup>1</sup>, A. HAJJI<sup>1</sup>, S. EL BOK<sup>1</sup> et M. EL GAZZAH<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unité de recherche Génétique des Populations et Ressources biologiques, Faculté des Sciences de Tunis, 2092, Tunisie

\*Correspondance, courriel : [geneticien.2008@yahoo.fr](mailto:geneticien.2008@yahoo.fr)

### Résumé

Ce travail a pour but de voir l'impact de l'application d'une combinaison de stress abiotique sur la germination des graines de vesce commune ainsi que de visualiser les modifications physiologiques et histologiques au niveau des tissus racinaires sous l'influence de ces contraintes. De ce fait, une conduite de germination a été réalisée avec des graines de vesce commune dans différentes situations de combinaisons entre trois types de stress métallique-cadmique-salin et un suivi a été fait en se basant sur des caractères végétatifs bien déterminés. Les résultats montrent bien une nette différence entre les réponses des graines à l'application de stress séparément et entre les combinaisons de stress ainsi qu'une variabilité intra-espèce énorme vis-à-vis de différents types de contraintes.

**Mots-clés :** *vesce commune, stress métallique-cadmique-salin, caractères végétatifs, modifications physiologiques et histologiques.*

### Abstract

#### Germinative variability analysis of common vetch in the impact of Ferric-cadmium-Salin stress

This work aims to show the impact of the application of a combination of abiotic stress on seed germination of vetch and see the changes in physiological and histological root tissues under the influence of these constraints. Therefore conduct germination was carried out with common vetch seeds in different situations combinations of three types of metal-stress of cadmium-saline and follow-up was done based on vegetative characters well defined. Results show a significant difference between the responses of seeds to the application of stress and separately between combinations of stress and a huge intra-species variability vis-à-vis different types of constraints.

**Keywords :** *common vetch, cadmium-metal-salt stress, vegetative traits, histological and physiological changes.*

### 1. Introduction

Les fabacées sont considérés comme une source alimentaire de base pour une grande partie du monde jouant un rôle important dans l'alimentation humaine. Dans de nombreuses régions, des légumes sont fortement exposés au Cadmium provoquant ainsi un danger pour la santé publique [1,2] ; notons l'exemple des régions irriguées par les eaux usées au Nigeria. Les concentrations en Cadmium végétales variaient entre 0,09 et 0,62 mg / kg ; une concentration critique qui dépasse l'aboutissement confirmé (0,2 mg/kg) par la norme d'hygiène alimentaire nationale de Chine [3]. Les terres arides et semi arides occupent le tiers du globe [4]. La salinité des sols ainsi que de l'eau de l'irrigation dans ces terrains pose un problème critique au niveau de l'agriculture et la production végétale de façon générale. Les plantes qui subissent ce type de contrainte réagissent, pour échapper à ce type de contraintes, de différentes manières selon tout dépendent la concentration du sel ainsi que leur degré de sensibilité à ce facteur. Ce type de stress se manifeste par des perturbations physiologiques permettant des mises en évidence des différences nettes entre les espèces ainsi qu'entre les variétés [5].

## 2. Matériel et méthodes

### 2-1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est sous forme des semences de vesce commune (*Vicia sativa* ssp *sativa*) qui proviennent du laboratoire d'analyse des semences, du Ministère d'Agriculture et Ressources hydrauliques et de Pêche, ces graines sont récoltées en 2010 et mises par la suite dans une chambre froide pour les conserver.

### 2-2. Essai de germination

Avant la mise en germination, les graines sont désinfectées par l'acide chlorhydrique 12° pendant 15 minutes, ils seront par la suite abondamment lavés par de l'eau ordinaire puis rincées 3 fois successives par de l'eau distillée. Il faut noter que les graines de *Vicia sativa* ont été mécaniquement scarifiées avant leur mise en germination vu la rigidité de leur tégument externe. Les graines sont mises en culture dans des cristallisoirs tapissées par une double épaisseur de papier filtre imbibé d'eau distillée et à raison de 10 graines par boîte. La germination a lieu dans l'étuve dans une température presque constante de 25°C ± 1. L'application des traitements a été faite dès la mise des graines en germination, les concentrations utilisées dans cette manipulation sont : 120 mM en NaCl, 10 µM de sulfate de Fer et 20 µM de sulfate de Cadmium.

### 2-3. Caractères contrôlés

Les semences ont été irriguées quotidiennement. Dès que le mécanisme de germination a démarré, nous nous sommes intéressés à mesurer l'élongation de la radicule (LR), à peser le poids de la radicule (PFR), à estimer la corrélation longueur/poids chez les individus testés (L/Pr) ainsi que le degré d'inhibition du traitement au stade germinatif (IGr).

Notons que l'étude de la germination a été effectuée sur 30 graines, en répétant la manipulation deux fois, et ce pour chaque traitement. Le degré d'inhibition au stade germinatif se calcule de la manière suivante :

$$I_{Gr} = 100 - (E2 * 100) / E1 \quad (1)$$

Notons qu'E1 définit la longueur de la radicule des graines traitées alors qu'E2 indique la longueur de la radicule du lot témoin.

**Tableau 1** : Caractères étudiés au cours de l'expérimentation

Caractères étudiés	Abréviations
Longueur de la radicule	LR
Poids frais de la radicule	PFR
Rapport longueur / poids de la radicule	L/Pr
Degré d'inhibition des traitements appliqués	I <sub>Gr</sub>
Taux de germination final	TGF

On a procédé à effectuer des observations microscopiques de tissu radiculaire dans le but de voir les anomalies spectaculaires observés au niveau des tissus traités

### 2-4. Analyses statistiques

Les comparaisons des moyennes des séries traitées ont été analysées à un facteur suivi ou non par le test ANOVA. Les données collectées sont analysés en se basant sur le logiciel d'analyses statistiques « Statistica Edition 1999 ».

## 3. Résultats et discussion

### 3-1. Effet des traitements appliqués sur l'élongation de la radicule

Le taux de germination final des graines testés est un caractère qui dépend directement de la nature des traitements qu'ils subissent. En effet, la germination des graines a diminué de manière significative chez les graines traitées par la combinaison Sel-Cadmium (Cd+Na). La diminution de taux de germination s'avère non significative au niveau des graines traitées par la combinaison Fer-Sel (Fe+Na) ou bien par le Cadmium seul (Cd) (*Figure 1*). La longueur ainsi que le poids frais de la radicule

sont deux caractères qui fluctuent de manière proportionnelle, il est bien remarqué que le rapport L/P de graines traitées par la solution ferrique s'améliore par rapport au lot témoin, de même pour les graines traitées par le couple Fer-Cadmium. Ceci mène à conclure que le Fer inhibe la vigueur réduisant effectué par le Cadmium et il améliore donc le pouvoir germinatif des graines, il est remarqué aussi que le taux de germination final au niveau de couple de traitement Cd-Fe est moins important que celui de taux avec le traitement Cd-Na-Fe ; cette constatation montre une autre fois l'effet améliorant de Fer (**Figure 2**).

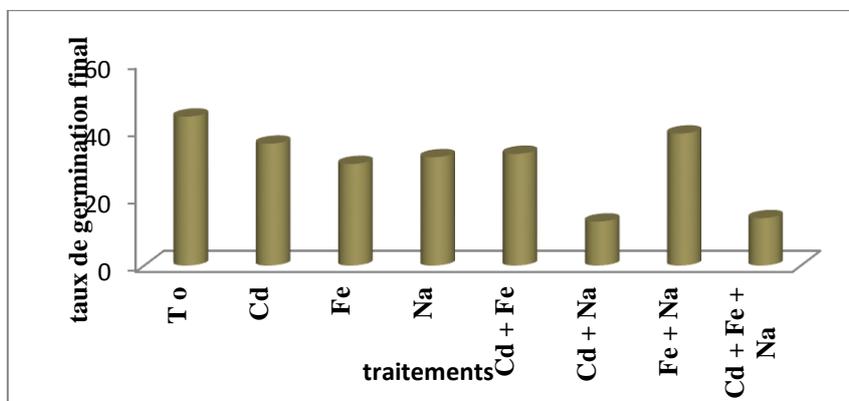


Figure 1 : Variation des taux de germination final en fonction des traitements

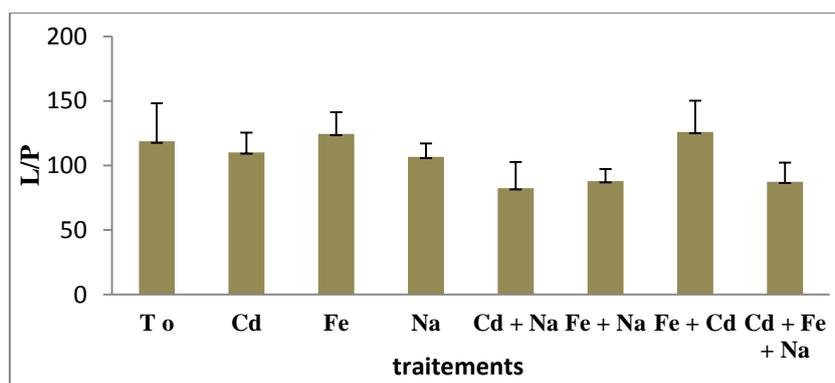


Figure 2 : Variation du rapport « L/P » en fonction des traitements utilisés

Le degré d'inhibition des traitements appliqués sur la germination est maximal au niveau de la combinaison complète de trois types de stress, cependant, il est négatif au niveau du traitement métallique, ceci prouve encore que le Fer a un effet améliorant au niveau de déroulement de la germination des graines de vesce commune (**Figure 3, 4 et 5**).

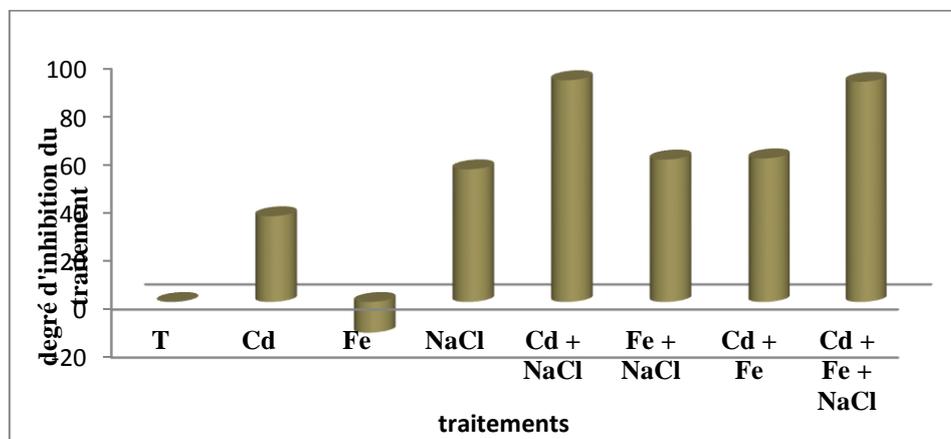
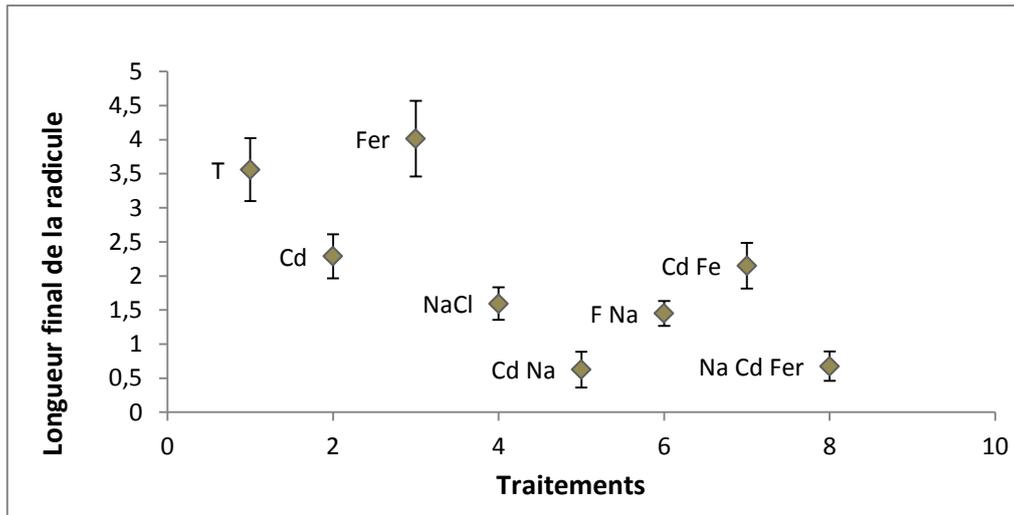
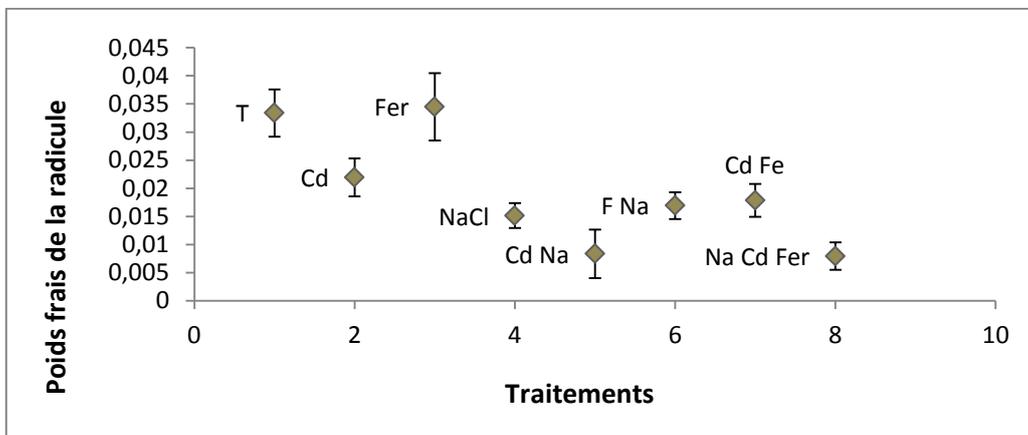


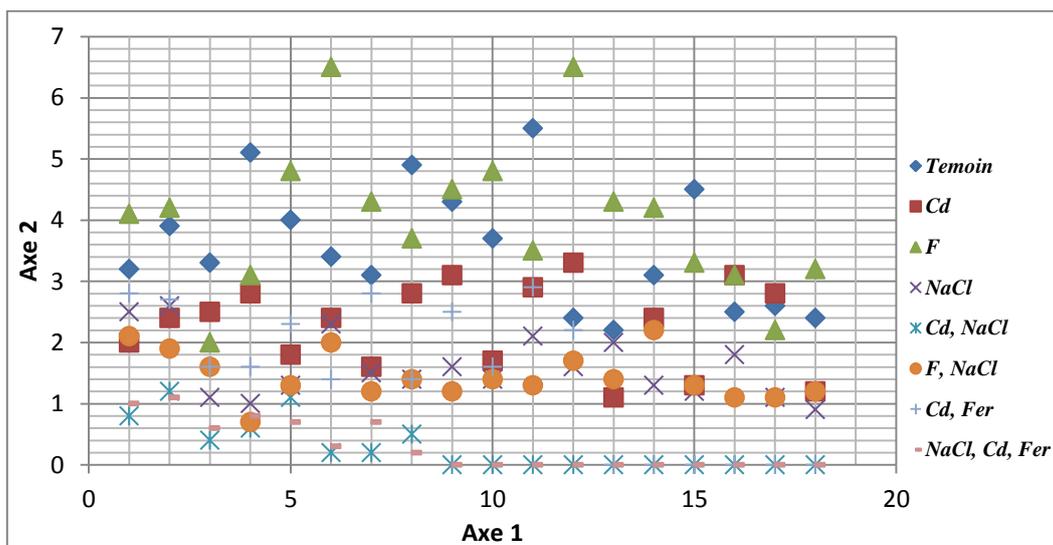
Figure 3 : Degré d'inhibition des traitements utilisés sur la germination des graines



**Figure 4 :** *Variation de la longueur de la racine en fonction des traitements*



**Figure 5 :** *Variation de poids frais de la racine en fonction des traitements appliqués*



**Figure 6 :** *Analyse discriminante et distribution des individus traités selon l'axe 1 et l'axe 2*

3-2. Résultats des analyses statistiques

Tableau 2 : Matrice de corrélation entre les caractères observés [Corrélations, Suppression des obs. à VM, N = 8 (new.123)]

	L	P	L/P	I	TGF
L	1,000000	0,988742	0,845390	-0,983243	0,650433
P		1,000000	0,770911	-0,991759	0,695845
L/P			1,000000	-0,764997	0,584340
I				1,000000	-0,681376
TGF					1,000000

Le **Tableau 2** résume les corrélations qui existent entre les caractères prises en expérimentation ; la matrice montre une variabilité assez énorme ainsi que des fortes corrélations entre ces caractères, en outre autre, une corrélation positive s'observe entre le couples de caractères « L-P », « L/P-L », « L/P-P », « TGF-L », « TGF-P » et « TGF-L/P ». On remarque bien que le caractère I n'a aucune corrélation positive avec un autre caractère.

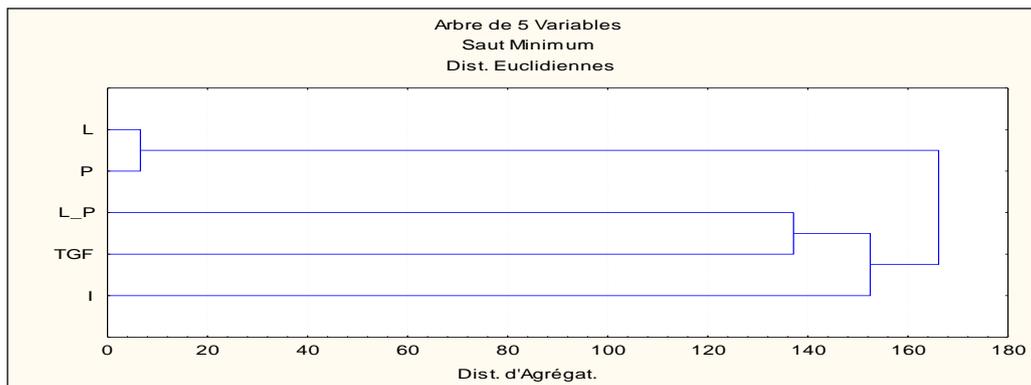


Figure 7 : Histogramme des distances Euclidiennes de Nei entre les différents caractères observés

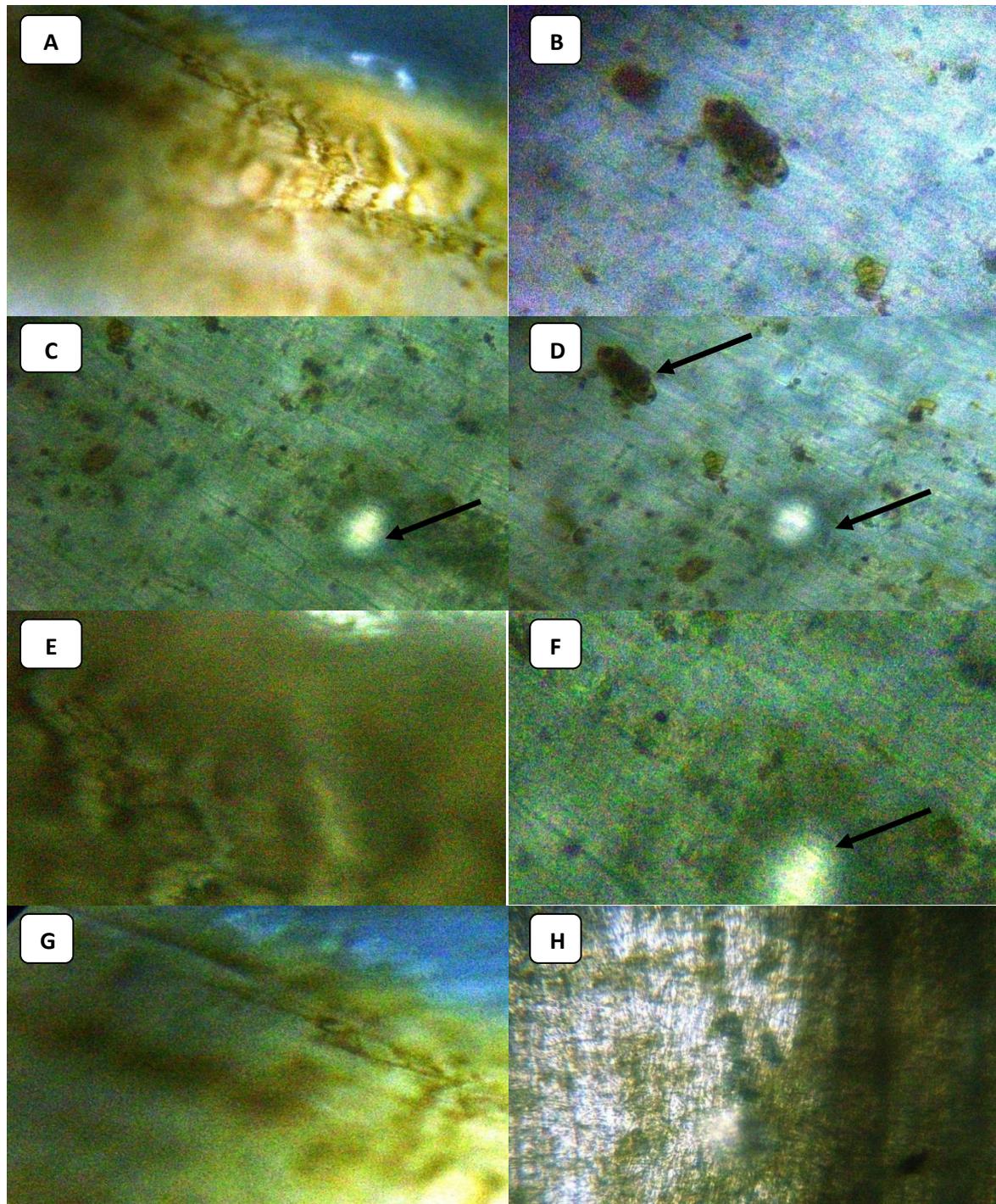
3-3. Observation microscopique des tissus racinaires sous stress

Une observation microscopique a été effectuée pour détecter les symptômes au niveau des racines suite à l'application de différents traitements. Les résultats sont relevés au niveau du **Tableau** suivant :

Tableau 3 : Anomalies observés au niveau de tissus des racicules traitées

Traitements	Anomalies observés au niveau de la racicule
Na + Cd	Blocage au niveau de la division cellulaire, réduction au niveau de la taille des cellules, vacuoles réduites, perforation des tissus, absence de structure de coiffe
Cd	Perforation des tissus, taches noires
Na	Brunissement de tissu, réduction au niveau de la taille des cellules
Na + Fe	Division cellulaire anarchique, brunissement de tissu, réduction au niveau de la taille des cellules, absence de structure de coiffe
Cd + Fe	Pas de modification au niveau de la taille des cellules, brunissement de tissu, perforation des tissus
Fe	Brunissement de tissu, structure en coiffe normale
Na + Fe + Cd	Brunissement et perforation des tissus, endommagement de la paroi pectocellulosique de quelques cellules, absence de structure de coiffe

L'analyse des données fournis par le **Tableau** ainsi que la **Figure** mène à conclure que le brunissement des tissus racinaires est lié directement à l'existence de cations  $Fe^{3+}$  ou bien de  $Na^{2+}$  dans le milieu de mise en germination. Cependant, la perforation des tissus est un critère d'aberration qui coexiste de manière dépendante à la présence de Cadmium dans le milieu. Le couplage de stress salin et cadmique ( $Na+Cd$ ) entraîne la perforation des tissus des racines de la vesce commune et engendre un blocage permanent de cycle cellulaire (blocage immédiat de la mitose).



**Figure 8 :** Observation microscopique de racines endommagées sous l'influence de différents types de traitements (G : x 400): A : lot témoin ; B : Cd ; C : Na ; D : Cd + Na ; E : Na + Fe ; F : Cd + Fe ; G : Fe ; H : Na + Cd + Fe

### 3-4. Interprétation

Le cadmium est l'un des métaux lourds les plus toxiques et grâce à sa mobilité dans le sol, il est facilement retenu par les racines et peut causer donc des dommages graves aux plantes cultivées plus précisément [6,7]. Les résultats mentionnés dans

ce travail montrent bien une inhibition du taux de germination et de rendement de la *Vicia sativa* sous l'effet du traitement cadmique ; Ces constatations sont affirmatives de celles de Meharg en 1994 [8] qui a montré que l'exposition des plantes au cadmium inhibe l'activité des enzymes photosynthétiques, affaiblit la teneur en chlorophylle, augmente la conductance membranaire et provoque par la suite une sorte d'un stress oxydatif entraînant l'inhibition de la croissance. Divers sont les essais de fertilisation dans les forêts endommagées qui confirment la proposition que la nutrition supplémentaire augmente la résistance des plantes aux différents types de stress [9]. Des quantités croissantes de Calcium, en Soufre et d'autres éléments peuvent diminuer l'effet toxique du cadmium Prenant en compte le fait que la toxicité provoquée par les métaux lourds et d'autres polluants de l'environnement implique des mécanismes génotoxiques différents [10,11] ainsi que des modifications de certaines propriétés génétiques. L'effet négatif de cadmium est généralement modifié par d'autres facteurs [12]. Un élément amplifiant de cet impact est l'acidité du sol, qui détermine la teneur en métaux lourds, la mobilité et la possibilité de passer dans le système vasculaire d'une plante quelconque [13].

#### 4. Conclusion

Nos résultats montrent que le traitement par le couple Cd +Na (combinaison entre les deux types de contraintes cadmique-saline) entraîne la perforation des tissus des racines de la vesce commune et le blocage des divisions cellulaires, d'autres études ont montrés que le cuivre induit plusieurs aberrations chromosomiques dans les méristèmes racinaires de *Vicia faba* et de *Pisum sativum* [14]. D'autres expériences ont démontré que l'ultrastructure des cellules de l'apex racinaire et des cellules des feuilles de la lentille a montré des changements lors de l'application de l'herbicide « FPB » à différentes concentrations (Ozlem and Feruzan, 2011) [15]. Nous proposerons comme perspectives pour cette étude d'élargir la recherche pour élucider l'effet des combinaisons des contraintes abiotiques utilisés sur le cycle de synthèse enzymatique, le déroulement cytogénétique et moléculaire sur les racines et durant tout le cycle de vie de la vesce commune et d'autres espèces apparentés qui sont cultivés pour les utiliser comme plante fourragère.

#### Références

- [1] - D. Demirezen and A. Aksoy, Heavy metal levels in vegetables in Turkey are within safe limits for Cu, Zn, Ni and exceeded for Cd and Pb. *Journal of Food Quality* (2006), 29, pp 252–265.
- [2] - J. Li, Z.M. Xie, J.M. Xu and Y.F. Sun, Risk assessment for safety of soils and vegetables around a lead/zinc mine. *Environmental Geochemistry and Health* 28 (2006), pp 37–44.
- [3] - A.A. Yusuf, T.A. Arowolo and O. Bamgbose, Cadmium, copper and nickel levels in vegetables from industrial and residential areas of Lagos City, Nigeria. *Food Chemical Toxicology*, 41(2003), pp 375–378.
- [4] - E. Zid et C. Grignon, Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydrique. 11ème journées Scientifiques du Réseau de Biotechnologies Végétales, L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides, AUPELF/UREF (1991), pp 91-108.
- [5] - H. Greenway and R. Munns, Mechanism of salt tolerance in non halophytes. *Plant Physiology* 31 (1980), pp 149-190.
- [6] - A. Brekken and E. Steinnes, Heavy metals in the environment, Toronto (1993), pp 45 – 50
- [7] - A. Antanaitis, T. Tamulis and A. Žemaitis, Microelements in soil and plants, *Agriculture science* 2(1996), p 53.
- [8] - A.A. Meharg, Integrated tolerance mechanisms: constitutive and adaptive plant responses to elevated metal concentrations in the environment. *Plant, Cell and Environment* 17 (1994), p 989.
- [9] - V. Stravinskienė, Dendrochronological indication of climatic factors and anthropogenic alterations of environment in Lithuania; Kaunas (2000), p 42
- [10] - J.F. Briat and M. Lebrun, Plant responses to metal toxicity. *Plant Biology and Pathology* (1999) 322, p 43.
- [11] - R. Sobkowiak and J. Deckert, Cadmium-induced changes in growth and cell cycle gene expression in suspension culture cells of soybean, *Plant Physiology and Biochemistry*, 41 (2003), p 767
- [12] - P. Dukchovskis, R. Juknys, A. Brazaityte and I. Zukauskaitė, Plant response to integrated impact of natural and anthropogenic stress factors. *Russian J. Plant Phys* 50, 2 (2003), p 147
- [13] - J. Mazvila, L. Eitminavicius and T. Adomaitis, Acidity of soils in Lithuania, *Agriculture* 71 (2001), p 3.
- [14] - D. Souguir, P. Goupil, E. Ferjani et G. Ledoigt, Effets génotoxiques du Cuivre chez *Vicia faba* et *Pisum sativum*, *Etude et Gestion des Sols*, Volume 16, 3/4 (2009), pp 339 - 347
- [15] - A. Ozlem and D. Feruzan, Ultrastructural changes in the root tip and leaf cells of *Lens culinaris* treated with fluazifop-p-butyl. *Turk J Bot* 35 (2011), pp 389-402.