

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Et Ecologie Végétale

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا النبات وعلم البيئة

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Écologie et Environnement

Spécialité : Écologie fondamentale et appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Étude de la phytotoxicité du cadmium
en présence de nanoparticules d'oxyde de zinc
sur le colza *Brassica napus L.***

Présenté par : BOUTEMIN Zineb

Le/06/2022

LAFALA Khoulood

Jury d'évaluation :

Encadreur : AFRI-MEHENNAOUI F-Zohra Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1

Co-encadreur : CHARCHAR Nabil MRA - Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt)

Examineur 1 : TOUATI Laid MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1

Examineur 2 : KARA Karima MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1

**Année universitaire
2021 – 2022**

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous aimerions témoigner toute notre gratitude.

Nous voudrions tout d'abord adresser toute notre reconnaissance à la directrice de ce mémoire, Madame Afri-Mehennaoui Fatima-Zohra, professeur à l'Université de Constantine 1 et Directrice de recherche au laboratoire de Biologie et Environnement, pour sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous tenons à remercier spécialement Monsieur Charchar Nabil, Maître de recherche classe A et responsable de l'équipe de recherche « écotoxicologie et bio-surveillance des écosystèmes » au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) pour nous avoir guidés dans la réalisation de notre mémoire.

Nous tenons à remercier infiniment les membres du jury, Madame Kara Karima et Monsieur Touati Laid, en qualité d'examineurs pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer notre contribution.

Nous voudrions exprimer notre reconnaissance envers Madame Cherb Nora, ingénieure principale de soutien à la recherche, et responsable du volet technique de notre contribution, ainsi qu'à ses collègues du laboratoire d'analyses environnementales, Mesdames Bouguendoura Meriem et Haddad Rafika qui nous ont apporté leur savoir-faire, leur aide et leur soutien moral tout au long de notre démarche. Merci pour votre disponibilité et votre patience.

Nous remercions également les responsables des laboratoires d'analyses environnementales et de culture in vitro, qui nous ont fourni le matériel nécessaire à la réalisation de nos essais expérimentaux et analyses.

Un merci particulier à nos familles pour leurs encouragements continus et leur soutien moral durant toute cette période d'étude.

Si par hasard, nous venions à oublier de citer certaines personnes, qu'elles sachent que notre reconnaissance va bien au-delà de ces remerciements.

DÉDICACES

À mon très cher fils,

Tu es ma plus belle histoire d'amour. Dès que je pose le regard sur toi, je sais pourquoi j'existe.

BOUTEMIN Zineb

À mes très chers parents,

Aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur la gratitude et l'amour que je vous porte.

LAFALA Khouloud

Résumé

Le cadmium est un élément non essentiel provoquant de graves symptômes de toxicité chez les plantes, en plus de poser des problèmes de santé dangereux en raison de son accumulation dans les organismes animaux et chez l'humain à travers la chaîne alimentaire. Les nanoparticules (NPs) sont récemment utilisées comme une nouvelle stratégie pour améliorer directement le stress du Cd et agissent comme des nano-engrais. Le but de la présente étude est d'explorer les effets des nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs ZnO) à différentes concentrations (50, 100, 150, 1000 mg/kg du sol) sur la germination, l'élongation foliaire, le poids frais des feuilles, les teneurs en chlorophylle a, b et totale, les protéines, la malondialdéhyde (MDA) chez le colza (*Brassica napus L.*) sous stress cadmique (2mg/kg du sol). A cet effet, les graines de colza exposées au Cd sont traitées *via* des concentrations de NPs ZnO pendant 45 jours dans des pots contenant du sol provenant de Guelma. Les plantes de colza supplémenté en NPs ZnO sous la toxicité de Cd ont révélé des différences des taux de germination non significatives des graines du colza. Les NPs ZnO ont des effets positifs par rapport à la concentration contrôle (C : 2 mg/kg du sol) sur le poids frais des feuilles à 150 mg/kg, la teneur en chlorophylle, et en protéines. Les NPs ZnO ont considérablement empêchés les augmentations de MDA qui montre directement une diminution de taux de peroxydation lipidique qui peut refléter de manière critique l'apparition d'un niveau de stress oxydatif dans les cellules.

En conclusion, l'application de nanoparticules de ZnO au sol contaminé par le Cd s'avère très efficace pour améliorer le poids frais des feuilles de colza, la photosynthèse, le taux de protéines et l'activité des enzymes antioxydantes. Cela peut être attribué principalement à la réduction des dommages oxydatifs induite par la supplémentation en NPs ZnO.

Mots-clefs : cadmium, nanoparticules, ZnO, colza, germination, élongation foliaire, poids frais des feuilles, chlorophylle, protéines, MDA.

Liste des abréviations

A	Argile
AFNOR	Association Française de Normalisation
AGPI	Acides gras polyinsaturés
Cd	Cadmium
CAT	Catalase
CE	Conductivité électrique
CEC	Capacité d'échange cationique
Chl	Chlorophylle
CL50	Concentration létale pour 50% des individus exposés
CRBt	Centre de Recherche en Biotechnologie
EF	Élongation foliaire
ETM	Éléments traces métalliques
FPGN	Fond pédogéochimique naturel
GEPPA	Groupe d'Étude des Problèmes de Pédologie Appliquée
GSH	Glutathion réduit
HR	Humidité résiduelle
LF	Limon fin
LG	Limon grossier
LPO	Peroxydation des lipides
MDA	Malondialdéhyde
MF	Matière fraîche
MS	Matière sèche
MO	Matière organique
N	Azote
NF	Norme Française
NPs	Nanoparticules
PC	Phytochélatines
PFF	Poids frais des feuilles
pH	Potentiel hydrogène
PVP	Polyvinylpyrrolidone
POX	Peroxydase
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	Superoxyde dismutase
rpm	Rotations par minute
SF	Sable fin
SG	Sable grossier
STF	Sable très fin
TBA	Thiobarbiturique
TCA	Trichloracétique
tr/min	Tours par minute
USDA	United States Department of Agriculture
UV-VIS	Ultraviolet-visuel
YSL	Yellow-Stripe 1-Like
ZnO	Oxyde de zinc

Liste des figures

N°	Titre des figures	Page
1	Facteurs influant sur la phytodisponibilité des éléments en trace métalliques (Gérard, 2000)	7
2	Transport radial de l'eau et des minéraux dans la racine (Ismael <i>et al.</i> , 2018)	9
3	Dissolution de nanoparticules de ZnO (concentration $[Zn^{2+}]$ mesurée après 24 h) en suspension aqueuse en fonction de la taille des particules. Concentration initiale de ZnO = 500 mg/l ; pH =7,5. (Mudunkotuwa <i>et al.</i> , 2012)	18
4	Graines et plantes de colza	21
5	Vérification du pouvoir germinatif des graines de colza	23
6	Localisation du lieu d'échantillonnage (Photo Google Earth)	23
7	Mélange du sol avec le Cd et les nanoparticules ZnO	30
8	Serre expérimentale du CRBt	30
9	Germination des semis de colza	31
10	Classes texturales du sol prélevé à Guelma	34
11	Effet de Cd et des concentrations des NPs ZnO sur le taux de germination des graines de colza	38
12	Effet de la concentration de Cd et des ZnO sur l'élongation foliaire du colza	40
13	Effet de la concentration de Cd et des NPs ZnO sur le poids frais des feuilles de colza	41
14	Effet de la concentration de Cd et des nanoparticules ZnO sur la teneur en chlorophylle (a), (b) et totale des plantes de colza	42
15	Variation des taux des protéines du colza en fonction de la concentration de Cd et des nanoparticules ZnO	44
16	Variations des taux de MDA ($\mu\text{mol/ml}$) du colza en fonction des concentrations de Cd et des NPs ZnO	46

Liste des tableaux

N°	Titre des tableaux	Page
1	Concentrations de Cd et de nanoparticules ZnO de l'essai	29
2	Paramètres physico-chimiques du sol de la wilaya de Guelma	33
3	Grille d'évaluation de la nature des sols en fonction du pH (SSDS, 1993)	34
4	Grille d'appréciation de la salinité de sol en fonction de la conductivité électrique (SSDS, 1993)	35
5	Grille d'appréciation des taux de carbone organique dans le sol (Hazelton et Murphy, 2017)	35
6	Classement de la capacité d'échange cationique des sols (Couronne, 2015)	36
7	Grille d'évaluation des teneurs en azote dans le sol (SSDS, 1993)	36
8	Grille d'appréciation du rapport C/N (Laboratoire de Conseils et d'Analyses-LCA, 2008)	36
9	Grille de détermination des classes de calcaire total du sol (Baize, 1988)	37
10	Grille de détermination des classes de phosphore assimilable du sol (IAV, 2006)	37
11	Test de Kruskal-Wallis de l'effet des concentrations de NPs ZnO sur le taux de germination des graines de colza	39
12	Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur l'élongation foliaire des graines de colza	40
13	Effet de Cd et des concentrations de NPs ZnO sur le frais des feuilles de colza	41
14	Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en chlorophylle (a), des plantes de colza	42
15	Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en chlorophylle totale des plantes de colza	43
16	Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur la teneur en chlorophylle (a), des plantes de colza	43
17	Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur le taux de protéines de colza	45
18	Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur les taux de MDA de colza	46

Table des matières

Remerciements	i
Dédicaces	ii
Résumé	iii
Liste des abréviations	iv
Liste des figures	v
Liste des tableaux	vi
Table des matières	vii
Introduction	1

Synthèse bibliographique

I. Synthèse bibliographique.....	4
I.1 Le cadmium	4
I.1.1 Définition du cadmium.....	4
I.1.2 Cadmium dans le sol	4
I.1.3 Cadmium dans la plante	7
I.2 Le Zinc.....	11
I.2.1 Définition	11
I.2.2 Zinc dans le sol.....	12
I.2.3 Zinc dans la plante.....	12
I.2.4 Interaction entre cadmium et zinc	13
I.2.5 Formes chimiques du Zn dans le sol	14
I.2.6 Définition et caractéristiques des nanoparticules ZnO.....	15
I.2.7 Origine et utilisation des nanoparticules ZnO.....	15
I.2.8 Phytotoxicité des nanoparticules ZnO.....	16
I.2.9 Facteurs influençant la toxicité et la biodisponibilité des nanoparticules ZnO..	17
I.2.10 Phytodisponibilité et bioaccumulation des nanoparticules ZnO	19
I.2.11 Mécanisme de défense des plantes contre le stress oxydatif.....	20
I.3 Colza.....	20
I.3.1 Caractéristiques et origine du colza	20
I.3.2 Utilisations du colza	21

Matériel et Méthodes

II. Matériel et Méthodes	22
II.1 Préparation et méthodologie de semis (réalisation de l'essai).....	22
II.1.1 Substance d'essai	22
II.1.2 Matériel végétal utilisé	22
II.1.3 Substrat d'essai.....	23
II.1.4 Caractéristiques physico-chimiques du substrat d'essai	24
II.1.5 Préparation des concentrations de Cd et de NPS ZnO et semis des graines	29
II.1.6 Prélèvement des échantillons	30
II.2 Paramètres biologiques.....	30
II.2.1 Paramètres biométriques	31
II.2.2 Paramètres physio-morphologiques	31
II.2.3 Paramètres biochimiques.....	32
II.3 Traitement et analyse des résultats	32

Résultats et Discussion

III. Résultats et Discussion.....	33
III.1 Paramètres physico-chimiques du sol	33
III.1.1 Granulométrie.....	33
III.1.2 Potentiel hydrogène, pH	34
III.1.3 Conductivité électrique	34
III.1.4 Matière organique et carbone organique	35
III.1.5 Capacité d'échange cationique.....	35
III.1.6 Azote total	36
III.1.7 Rapport C/N	36
III.1.8 Calcaire total	37
III.1.9 Phosphore assimilable	37
III.2 Paramètres biologiques.....	38
III.2.1 Paramètres biométriques	38
III.3 Paramètres physio-morphologiques	41
III.3.1 Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur le poids frais des feuilles ...	41
III.3.2 Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur le taux de chlorophylle (a), (b) et totale (T).....	42

III.4 Paramètres biochimiques (biomarqueurs de stress)	44
III.4.1 Effet du Cd et des concentrations NPs ZnO sur le taux des protéines du colza.	44
III.4.2 Effet du Cd et des concentrations NPs ZnO sur le taux de malondialdéhyde (MDA) du colza	46

Conclusion et Perspectives

Conclusion.....	47
Perspectives	48

Références bibliographique

Références bibliographiques	49
Résumé en anglais	
Résumé en arabe	
Résumé en français	

Introduction

Introduction

Les éléments traces toxiques pénètrent continuellement dans l'environnement par les activités humaines. La majeure partie des éléments toxiques se retrouvent dans le sol et sont accumulés par les cultures si elles sont cultivées sur un tel sol (Rizwan *et al.*, 2017a). Le cadmium (Cd) est l'un des éléments traces les plus toxiques, répandus et non essentiels pour la croissance des plantes (Baycu *et al.*, 2017) alors que le zinc (Zn) fait partie des nutriments essentiels nécessaires à la bonne croissance des plantes (Cakmak et Kutman, 2018).

En raison de la similitude entre le Zn et le Cd, ces éléments interagissent entre eux dans le sol, à la surface des racines et par translocation au sein de la plante (Wang *et al.*, 2018). En raison du comportement antagoniste du système sol-plante, les études ont mis en évidence que le Zn pouvait diminuer l'accumulation de Cd dans les plantes (Rizwan *et al.*, 2019b).

Différentes méthodes et formes ont été utilisées pour l'approvisionnement en Zn des plantes (Rizwan *et al.*, 2019b). Récemment, l'application d'éléments nutritifs dans l'agriculture sous forme de nanoparticules (NPs) est considérée comme un moyen efficace d'améliorer les croissances des cultures (Rizwan *et al.*, 2017b).

Les nanoparticules manufacturées de différents oxydes métalliques sont rejetées involontairement dans l'environnement pendant leur production, leur utilisation et leur élimination, comme le traitement des eaux usées, le recyclage, l'incinération des déchets et la mise en décharge (Keller *et al.*, 2013). Les NPs ZnO sont largement synthétisées et utilisées dans les industries telles que la cosmétique, les pigments photocatalyseurs et l'industrie pharmaceutique (Sturikova *et al.*, 2018). Parmi les NPs à base de métaux, l'application des NPs à base d'oxyde de zinc (ZnO) comme engrais dans l'agriculture suscite un intérêt croissant (Rizwan *et al.*, 2019a). Elles peuvent jouer un rôle important pour favoriser la croissance et le rendement des plantes, mais actuellement, les enquêtes sur les effets toxicologiques des nanoparticules continuent d'augmenter avec le temps et seules quelques études ont été menées pour déterminer leurs effets sur les plantes (Lin et Xing, 2007 ; López-Moreno *et al.*, 2010). Les nanoformes des éléments peuvent alors réduire les pertes des nutriments et augmenter la croissance des cultures (Dimkpa *et al.*, 2017).

De nombreuses études ont souligné les impacts des NPs ZnO sur les cultures, en particulier dans les solutions nutritives, les milieux gélosés et les sols artificiels (García Gómez *et al.*,

2018). Cependant peu d'études ont été rapportées concernant les impacts des NPs ZnO dans le système sol-plante (Hussain *et al.*, 2018).

Il a été rapporté que des concentrations élevées de NP ZnO (>500 mg/kg) sont toxiques pour les plantes, tandis que les faibles concentrations sont bénéfiques selon les espèces végétales et l'environnement de croissance (Pullagurala *et al.*, 2018). Par conséquent, les concentrations élevées de NPs doivent être évitées dans l'agriculture, car les plantes nécessitent une concentration appropriée de micronutriments tels que le Zn pour une croissance normale, ce qui justifie l'application de NPZnO à faible concentration pour une croissance correcte des plantes (Sturikova *et al.*, 2018). Ainsi, de faibles concentrations de NPs pourraient être combinées avec d'autres amendements pour réduire l'accumulation de Cd dans les cultures (Ali *et al.*, 2019).

Les plantes sont une composante fondamentale des écosystèmes par leur rôle de producteurs primaires et leur position incontournable dans la chaîne alimentaire (Sharma *et al.*, 2019). Les plantes sont très sensibles à la nanotoxicité car elles peuvent absorber et accumuler les nanoparticules du sol, de l'eau et de l'air. Par conséquent, les plantes en tant qu'organisme modèle sont recommandées comme système d'essai biologique de premier niveau pour définir la toxicité possible de divers nanomatériaux (Ghosh *et al.*, 2019).

Le colza (*Brassica napus L.*) est une matière première pour l'alimentation humaine dans la production de margarine et des huiles de cuisson (Gokavi *et al.*, 2004). Cette espèce est utilisée avec succès comme organisme modèle pour les études écotoxicologiques. Cependant, un nombre limité d'études a été menée sur les effets combinés du Cd et des nanoparticules ZnO à différentes concentrations sur le colza, à la suite d'une courte durée d'exposition.

C'est dans ce cadre que s'inscrit l'objectif de la présente étude qui porte sur la détermination de l'effet simultané du Cd et des NPs ZnO sur le colza. Nous nous proposons d'évaluer l'influence de cadmium en présence des concentrations croissantes de ces nanoparticules sur certaines paramètres biométriques, physio-morphologiques et biochimiques de l'espèce *Brassica napus L.*

Ce document est composé de trois chapitres, dont le détail est donné ci-dessous :

Suite à l'introduction, le premier chapitre est une synthèse bibliographique où la première partie présente des notions générales sur le cadmium et les nanoparticules d'oxyde de zinc et la deuxième partie est consacrée à la présentation générale du modèle végétale (colza), notamment son origine et ses utilisations dans le domaine des études écotoxicologiques.

Le deuxième chapitre intitulé « matériel et méthodes » est un exposé de la démarche scientifique adoptée où sont décrits les outils et les protocoles expérimentaux utilisés (méthodes analytiques et bio essais) pour atteindre les objectifs fixés.

Le troisième chapitre est consacré à la présentation et l'illustration des résultats obtenus via la démarche expérimentale ainsi qu'à leur discussion.

Enfin, une conclusion générale est consacrée à un bilan global des différentes observations recueillies lors de cette étude et à proposer des perspectives de travail basées sur nos résultats en tenant compte des éventuelles limites des différentes expériences réalisées pour assurer la continuité du sujet abordé.

Chapitre I :
Synthèse bibliographique

I Synthèse bibliographique

Lorsque les plantes sont exposées aux métaux lourds, elles réagissent de façon différente selon les variétés. Certaines sont peu ou pas tolérantes et meurent au contact des métaux lourds. D'autres ont des réactions de défense, qui freinent l'absorption pour réduire la mobilité des éléments traces. D'autres enfin, sont tolérantes aux métaux, et peuvent même les accumuler.

Dans ce premier chapitre, nous présenterons, les effets combinés du cadmium et des nanoparticules d'oxyde de zinc sur la germination et la croissance des plantes de colza.

Les métaux lourds (la communauté scientifique préfère l'appellation : Éléments Traces Métalliques (ETM)) sont des éléments métalliques ayant un poids atomique élevé et une densité au moins cinq fois supérieur à celle de l'eau. Leurs multiples applications ont conduit à leur large distribution dans le milieu. Ces éléments sont considérés comme des toxiques systémiques connus pour induire des dommages sur la santé humaine et l'environnement (Hodson, 2004).

I.1 Le cadmium

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 (McLaughlin *et al.*, 2011).

I.1.1 Définition du cadmium

Le cadmium (Cd) est un métal blanc argenté ayant des propriétés physiques proches de celles du zinc (Zn) (Sarkar *et al.*, 2002). On rencontre en général le Cd à l'état de sulfure et il est souvent présent comme impureté dans le minerai de Zn appelé sphalérite (Lymburner, 1974). Le cadmium est un métal peu répandu à l'état naturel et présent à l'état d'impuretés dans divers minerais. Les minéraux les plus importants contenant du cadmium sont la greenockite (CdS), très souvent associée à la sphalérite (ZnS), et l'otavite (CdCO₃) (Andujar *et al.*, 2010).

I.1.2 Cadmium dans le sol

La teneur médiane en Cd de la croûte est de 0,2 mg/kg. Dans les sols, le Cd est présent à des concentrations de 0,01 à 1 mg/kg avec une moyenne mondiale de 0,36 mg/kg. Les intempéries peuvent conduire à des concentrations de Cd allant jusqu'à 5 µg/l dans l'eau du sol et jusqu'à 1 µg/l dans les eaux souterraines (Kubier *et al.*, 2019).

Dans les sédiments, on estime le stock de cadmium naturel à une teneur inférieure à $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$. Dans les sols, le cadmium est considéré comme un élément relativement mobile par rapport à d'autres métaux en traces tels que le cuivre ou le plomb (Bourrelier et Berthelin, 1998). Son comportement dans la solution du sol (disponibilité au transport ou immobilisation) et aux interfaces solution/solide et solution/plante (phytodisponibilité) dépend d'un grand nombre de paramètres bio-géochimiques liés à la nature du sol, au contexte microbiologique, et aux formes chimiques du métal dans la solution du sol et associé à la phase solide. Le cadmium forme des complexes avec les principaux acides organiques carboxyliques (acide citrique, oxalique, malique, etc.), susceptibles de se trouver dans les zones superficielles des sols cultivés. Ces associations modifient son comportement aux interfaces et peuvent faciliter, dans certaines conditions (formations de complexes stables), son entraînement avec la phase liquide. Le très faible produit de solubilité du carbonate de Cd (CdCO_3) limite fortement la concentration du métal en solution dans les sols calcaires. Dans ce cas, les carbonates (CaCO_3 , $(\text{Ca},\text{Mg}) \text{CO}_3$, etc.) constituent également une phase de sorption dominante qui contrôle la distribution de l'élément et sa mobilité dans le milieu (Martin-Garin, 2000). D'autres constituants solides du sol sont susceptibles d'interférer avec le cadmium et de limiter sa mobilité. On retiendra principalement le rôle joué par la matière organique et par les argiles (par ordre croissant d'affinité kaolinite < illite < smectite) ainsi que l'importance du pH et de la composition cationique de la solution du sol (notamment Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} et Fe^{3+}) dans le contrôle de ces réactions aux interfaces solide/solution (Martin-Garin et Simon., 2004).

➤ **Fond pédogéochimique et source de contamination du sol**

En anglais c'est le « background concentration ». La dénomination exacte en français est « fond géochimique » ou « concentration de fond naturelle » (FPGN). Chandesris *et al.* (2013) définissent le fond géochimique naturel en métaux dissous comme étant « la concentration naturelle en métaux dissous issue de l'altération des roches, de l'érosion et des retombées de poussières naturelles ». La concentration de cadmium dans les sols arables a attiré l'attention du grand public en raison de son effet direct sur la concentration du Cd dans les aliments (Zhang *et al.*, 2014).

Le cadmium est un élément non essentiel largement répandu dans l'environnement, à la fois géogénique et anthropique. À l'échelle mondiale, il y a cinq grands domaines d'utilisation du cadmium : les piles Ni-Cd (qui représentent près de 50 % de la consommation mondiale de cadmium), les enduits (20 %), les pigments (18 %), les stabilisants dans les plastiques et les produits synthétiques (6 %) et les alliages (6 %). On retrouve également de petites quantités de

cadmium dans d'autres produits fabriqués comme les tubes-images de téléviseurs, les radiateurs d'automobile, et commande et réacteurs nucléaires (Gouvernement Canade, 1994).

Les sources anthropiques peuvent augmenter les concentrations de Cd dans les sols et les eaux souterraines, qui sont importantes pour maintenir des approvisionnements sains en nourriture et en eau potable (Kubier *et al.*, 2019).

➤ Spéciation du cadmium

Le cadmium n'existe pas à l'état natif. Son minéral, la greenockite (CdS), est très rare et inexploité (Wedepohl, 1995). Le cadmium est présent dans presque tous les minerais de zinc (la teneur en cadmium varie de 0.01 à 0.05%). Le cadmium est également présent dans des minerais de plomb et de cuivre, ainsi que dans des phosphates naturels (Hurlbut et Klein, 1982). Dans les eaux naturelles l'ion Cd^{2+} prédomine en-dessous de pH 8, alors que CdCO_3 est prédominant entre les pH de 8 à 10 unités (Hem, 1972). Dans sa spéciation, il est généralement considéré comme dissous, seules les rivières très riches en matières en suspension ou des eaux proches du fond des rivières, peuvent présenter du Cd adsorbé à la fraction solide (Li *et al.*, 1984). L'adsorption du Cd dans la fraction solide est considérée comme étant un enjeu majeur pour expliquer la concentration de cet élément dans les eaux naturelles (Lum, 1987).

La spéciation du cadmium est la définition de la forme chimique ou de la phase porteuse, dans laquelle se trouve l'élément (forme ionique, structure moléculaire, association physique, support minéral ou organique) dans un milieu donné. Cependant, ce terme est surtout réservé à la définition des formes chimiques de l'élément quand celles-ci sont bien séparées et identifiées. Par exemple pour le Cd : Cd^{2+} , CdCl^+ , CdSO_4 , etc. Cette spéciation est alors réalisée principalement en solution. La forme chimique des éléments, la nature et la localisation physique des parties du sol où se trouvent les éléments sont déterminantes pour la mobilité, que ce soit sous forme dissoute ou particulaire.

Divers facteurs influent sur la forme chimique du Cd dans les sols et la phytodisponibilité. Ils sont liés principalement au sol lui-même et à la plante considérée (fig. 1). Le terme « terre » sera préféré à « sol » lorsqu'il s'agit d'études sur des échantillons de sol et non de caractéristiques des sols en général (Gérard, 2000).

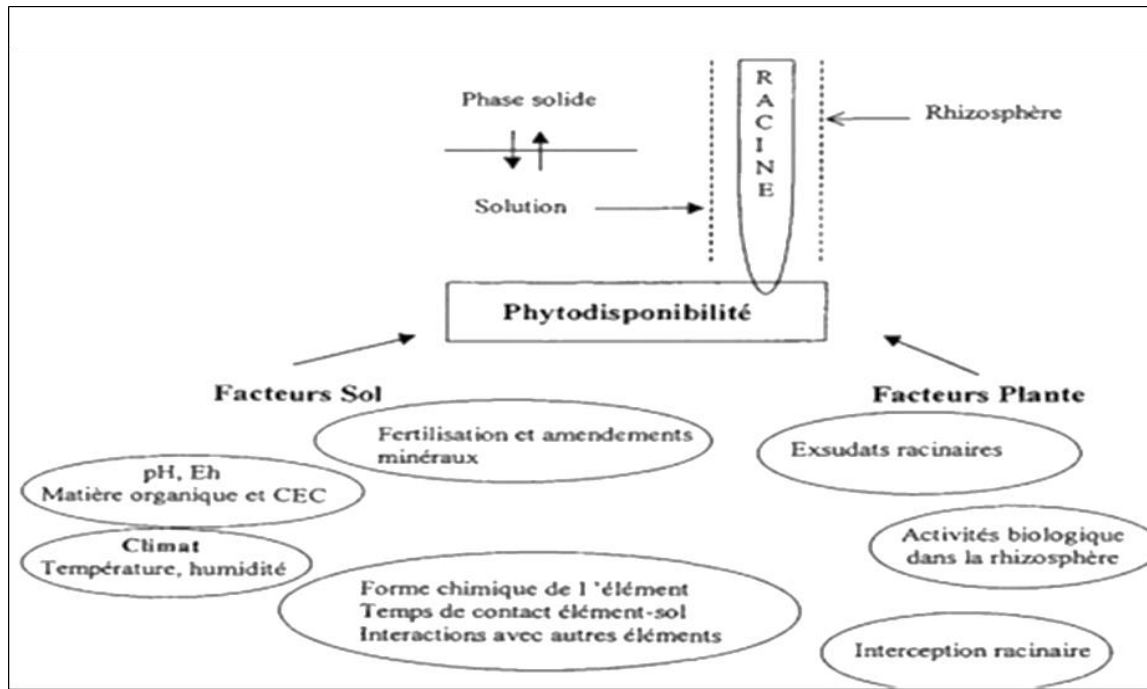


Figure 1 : Facteurs influant sur la phytodisponibilité des éléments traces métalliques (Gérard, 2000).

I.1.3 Cadmium dans la plante

En raison de ses conséquences toxiques importantes sur les plantes, le Cd a été l'un des métaux les plus étudiés. Cependant, des stratégies durables pour la minimisation des impacts du Cd dans les plantes a été peu explorée (Asgher *et al.*, 2014). Le cadmium est toxique pour les plantes (Gupta et Gupta, 1998). Bien qu'aucune fonction physiologique du Cd ne soit connue dans les plantes, il peut facilement être absorbé par les plantes à des niveaux toxiques. Cd^{+2} est la forme prédominante de cadmium dans la solution du sol (Tudoreanu et Phillips, 2004) et peut pénétrer dans les cellules racinaires par des transporteurs ou des canaux ou des protéines (Asgher *et al.*, 2014).

➤ Effet du cadmium sur les plantes

Les symptômes de la toxicité du cadmium sont facilement identifiables (Das *et al.*, 1997). L'effet induit par les métaux lourds est plus prononcé au début du développement des plantes. La mobilité et la disponibilité des métaux lourds dans les plantes dépendent d'une série de facteurs, tels que le pH du sol, la teneur en matière organique, la composition granulométrique du sol, etc. (Wyszkowska, 2013). Chez de nombreuses autres espèces, la toxicité diminue probablement avec la température. L'augmentation du pH augmente généralement la mortalité dans un large éventail d'espèces (Das *et al.*, 1997). Le Cd peut engendrer des conséquences

biochimiques, physiologiques, et moléculaires sur la plante (Gill *et al.*, 2012). Il est facilement absorbé par les racines et distribué dans toute la plante (Koeppel, 1977).

Le cadmium, métal phytotoxique fort, provoque une inhibition de la croissance et peut entraîner la mort de la plante. Le cadmium est toxique pour la plupart des plantes cultivées à des concentrations de Cd de plus de 5-10 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ poids sec de feuille sauf pour certaines hyper-accumulatrices de Cd qui peuvent tolérer des concentrations de Cd de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ poids sec de feuille (Gill *et al.*, 2012).

Haghiri (1973) a signalé qu'une teneur élevée en cadmium dans le milieu de culture inhibe l'absorption du fer par les plantes. Il a été démontré que le Cd interfère avec l'absorption, le transport et l'utilisation de plusieurs éléments (Ca, Mg, P et K) et de l'eau par les plantes (Sharma *et al.*, 1985). Un apport limité en eau, ainsi que l'inactivation de la mobilisation de l'amidon dans l'endosperme suivie d'un transfert altéré des sucres solubles vers l'axe embryonnaire de la graine peuvent contribuer à aggraver la faim sur l'axe embryonnaire (Kuriakose et Prasad, 2008). L'exposition au Cd à long terme réduit l'allongement des racines et des pousses des plantes, et provoque l'enroulement des feuilles (Abbas *et al.*, 2017). La toxicité du cadmium minimise la division mitotique des cellules méristématiques, ce qui conduit à une réduction de la longueur des racines et de la biomasse sèche, et améliore le diamètre des racines (Seth *et al.*, 2008). La toxicité du Cd entraîne des modifications de l'ultrastructure chloroplastique ayant une faible teneur en chlorophylle, ce qui provoque une chlorose et minimise l'activité photosynthétique (Miyadate *et al.*, 2010). Chez les plantes, les symptômes les plus généraux sont le rabougrissement et la chlorose. La chlorose, par excès de cadmium, semble être due à une interaction directe ou indirecte avec le Fe foliaire (Das *et al.*, 1997). Racine et Harrist (1975) ont estimé que la chlorose induite par le Cd dans les feuilles de maïs pourrait être due à des changements dans les rapports Fe/Zn. Chez d'autres, la toxicité du Cd semble induire une carence en phosphore ou réduire les problèmes de transport du manganèse (Goldbold et Huttermanne, 1985). La toxicité du cadmium a révélée une diminution de l'absorption des minéraux et de la photosynthèse chez les plantes (Rizwan *et al.*, 2016). Une concentration relativement faible de Cd peut également altérer le métabolisme des plantes (Younis *et al.*, 2016). Plusieurs symptômes : chlorose, la dessiccation, le rabougrissement, et la nécrose sont observés dans les plantes. Ces dernières peuvent présenter ces symptômes toxiques lorsque la concentration de Cd dans les tissus des végétaux dépasse de 3 à 30 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Ismael *et al.*, 2018). Le Cd peut provoquer une diminution de l'assimilation de l'azote et du carbone, et intervenir dans l'activité des antioxydants (Rizwan *et al.*, 2017). Le cadmium peut réduire l'activité enzymatique du nitrate réductase dans les pousses et minimiser l'absorption du nitrate

et son transport des racines aux parties aériennes (chez *Silene cucubalus* L.) (Tran et Popova., 2013). La compétition est forte entre les nutriments des plantes et les ions Cd pour des transporteurs membranaires similaires (Zhao *et al.*, 2005). Une grande partie de la recherche physiologique sur le mécanisme de la toxicité du Cd a impliqué une seule espèce ou variété végétale (Sharma *et al.*, 1985).

➤ Absorption du cadmium par la plante

Le cadmium est présent dans le sol principalement sous forme insoluble et n'est pas biodisponible pour les plantes. Cependant, les plantes peuvent augmenter la solubilité du Cd en libérant les exsudats racinaires qui modifient le pH de la rhizosphère (Clemens *et al.*, 2013). L'absorption de Cd (fig. 2) se produit principalement par les voies apoplastiques (Peer *et al.*, 2005).

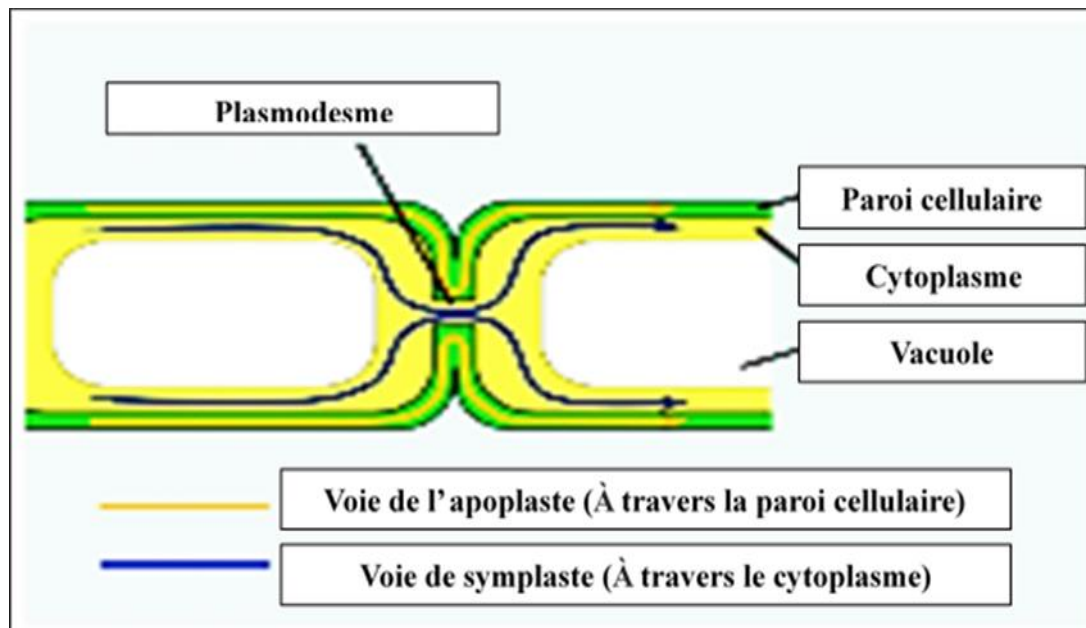


Figure 2 : Transport radial de l'eau et des minéraux dans la racine (Ismael *et al.*, 2018).

Le Cd^{2+} pénètre dans les cellules végétales par les canaux ioniques du Fe^{2+} , Zn^{2+} , et Ca^{2+} (Curie *et al.*, 2009). Les transporteurs de Zn sont connus pour transporter le Cd lorsque la concentration de Cd est au moins 100 fois plus élevée que celle de Cd dans le milieu (Song *et al.*, 2016). Des interactions entre Zn et Cd se sont produites dans l'absorption de cadmium (Chancy et Harnick, 1978). Ainsi, le Cd^{2+} pénètre dans la couche épidermique racinaire via les protéines Yellow-Stripe 1-Like (YSL) sous forme de chélates (Seregin et Kozhevnikova., 2004). Après passages à travers toutes les barrières depuis la surface radiculaire

jusqu'au cortex radicaire, les ions métalliques pénètrent dans le symplaste et sont transportés vers les éléments de la stèle et du xylème (Akhter *et al.*, 2014).

L'absorption de cadmium semble être passive (Cutler et Rains, 1974) ; elle augmenterait avec la diminution du pH du sol (Miller *et al.*, 1976) et diminuerait avec l'augmentation de la capacité d'échange cationique du sol (Haghiri, 1974). Lorsque le Cd entre dans la racine, il forme un complexe avec divers agents chélatants. Ces complexes sont immobilisés dans la paroi cellulaire, cytoplasme ou vacuoles, perdant ainsi leur toxicité (Ali *et al.*, 2013).

➤ **Distribution du cadmium dans la plante**

Le cadmium est l'un des métaux lourds les plus dangereux en raison de sa grande mobilité et de la faible concentration à laquelle ses effets sur les plantes commencent à se manifester (Barcelo et Poschenfieder, 1992). Le Cd est transporté dans les tissus sous forme ionique libre (Leita *et al.*, 1992) ou complexé (Salt *et al.*, 1995). Néanmoins, il peut être immobilisé dans la racine par des groupements pectiques et thiolates. Dans le xylème, le Cd peut être transporté sous forme liée avec des ligands organiques (Salt *et al.*, 1995) ou sous forme libre et peut alors être piégé par des groupements (COO^-), ce qui limite son transfert. Il semble cependant que la plupart du temps, le Cd soit transporté dans les tissus sous forme complexée, certains facteurs affectant la stabilité de ses complexes (Mullins *et al.*, 1986). Zn^{2+} a peu de capacité à inhiber le transfert de Cd^{2+} dans le riz mais inhibe clairement l'absorption de Cd chez d'autres espèces végétales (Chaney *et al.*, 2015). Le cadmium présent dans l'espace apoplasmique est transporté via des transporteurs membranaires plasmiques vers le cytosol (Erickson, 1986), alors que la plupart de ces transporteurs sont capables de transporter à la fois le Zn et le Cd (Morel *et al.*, 2009).

➤ **Détoxification et tolérance au cadmium chez les plantes**

L'accumulation de Cd entraîne divers effets toxiques chez les plantes (biochimiques, physiologiques, moléculaires, niveaux de croissance). Les mécanismes de détoxification peuvent être l'évitement ou la tolérance au stress (Choppala *et al.*, 2014 ; Jan et Parry, 2016). Ces mécanismes fonctionnent soit en complète coordination pour minimiser l'absorption du Cd ou annuler les effets du Cd à l'intérieur de la plante (DalCorso *et al.*, 2010). Différentes voies de signalisation (ex. voie de la calmoduline calcique, ROS surproduction et synthèse de phytohormones) chez les plantes sont activées lors de l'exposition au Cd (Ghosh et Roy, 2019 ; Maksymiec, 2007).

Le stress du Cd affecte les plantes et induit des mécanismes de détoxification. La tolérance des plantes au Cd est renforcée par la production rapide de phytochélatines (PC), la compétition pour les transporteurs de métaux (ex. Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} et Fe^{2+}), la synthèse d'antioxydants et la restauration des pigments végétaux (Shahid *et al.*, 2019 ; Shanmugaraj *et al.*, 2019). Les plantes font face au stress du Cd par la chélation, l'induction d'enzymes et de protéines antioxydantes et la compartimentation vacuolaire (Clemens *et al.*, 2002).

➤ **Organes d'accumulation du cadmium**

La séquestration et l'accumulation du cadmium permettent à la plante une détoxification de ses cellules. Les végétaux ont une capacité plus ou moins grande à accumuler le Cd. Les plantes fourragères ne contiennent souvent pas plus de 0,3 mg de Cd par kg de matière sèche (MS) (Wu *et al.*, 1989).

Les composés qui fixent le Cd dans les graines matures au cours de leur développement ne sont pas connus. Le Cd peut se lier aux phytates (myo-inositolhexaphosphate) dans les cristaux globulaires dans les corps protéiques des graines en développement (Welch, 1986). Lors de leurs travaux sur les tissus racinaires de divers espèces végétales, Van Stevenick *et al.* (1994) ont rapporté que des dépôts globulaires de phytates contenant du Zn se formaient dans de petites vacuoles de cellules racinaires dans la zone d'élongation des racines de soja, de maïs et de blé. Cependant, le Cd n'était pas lié à l'acide phytique dans ces petites vacuoles des cellules racinaires. Alternativement, le Cd pourrait être lié aux métallothionéines de classe 2 dans le développement des graines, car des gènes pour l'expression de ces protéines riches en sulfhydryle (connues pour lier le Zn) ont été signalés dans les graines de certaines espèces végétales, y compris celles du blé et du maïs (Welch et Norvelle, 1999). Le Cd s'accumule plus dans les feuilles et les tiges que dans les organes reproducteurs (Sameni *et al.*, 1987).

I.2 Le Zinc

Le zinc fait partie des éléments essentiels pour l'homme, les animaux et les plantes. Il est contenu dans certaines enzymes et il est indispensable pour beaucoup de processus biologiques et biochimiques.

I.2.1 Définition

Le zinc, élément du groupe IIB du tableau périodique, de masse atomique 65,38 g/mol, possède une densité élevée de 7,14 g.cm⁻³. (Finney et O'Halloran, 2003). Le zinc est un métal

ductile, bleu gris, moyennement réactif, qui se combine avec l'oxygène et d'autres non-métaux, et qui réagit avec des acides dilués en dégageant de l'hydrogène. La teneur moyenne en zinc de la croûte terrestre serait comprise entre 70 et 132 mg/kg (Richardson *et al.* 2001). Le zinc possède cinq isotopes stables. Leurs masses et abondances naturelles sont : ^{64}Zn (48,27 %), ^{66}Zn (27,90 %), ^{68}Zn (18,80 %) et ^{67}Zn (4,10 %) et ^{70}Zn (0,63 %) (Vallee et Falchuk, 1993).

I.2.2 Zinc dans le sol

La teneur moyenne en zinc de la lithosphère est en général de 50 mg/kg environ et les variations ne sont pas très importantes : de 10 à 150 mg/kg. La teneur en zinc de la roche-mère dépend de son origine géologique (Berthet *et al.*, 1984). Les minerais de zinc les plus répandus dans la nature sont le sphalérite (ZnS) et le smithsonite $\text{Zn}(\text{CO}_3)$. Les principaux apports de zinc anthropiques sont les déchets agricoles qui représentent (61%) de la pollution totale suivis par les déchets urbains (20%) et les retombées atmosphériques (18%) (Feix, 1998).

I.2.3 Zinc dans la plante

Le zinc est indispensable pour la croissance et la reproduction normale des plantes (Sadeghzadeh, 2013).

➤ **Rôle du Zn**

Cet élément est requis en faible quantité afin de permettre, d'une part, le fonctionnement normal de plusieurs voies physiologiques des plantes et d'assurer, d'autre part, l'intégrité structurale et fonctionnelle des membranes. Le Zn a un rôle important dans la régulation de la croissance des plantes et celle de l'expression des gènes. Il intervient aussi dans les différentes voies métaboliques telles que l'activité de phytohormones, la synthèse des protéines, la photosynthèse, le métabolisme des glucides, la défense contre les maladies et aussi dans la fertilité et la production de semence (Sadeghzadeh, 2013).

➤ **Excès de zinc**

D'après (Loué, 1993) En quantité excessive dans le sol, le zinc peut devenir toxique pour les plantes. La toxicité de Zn concerne généralement des sols acides ou des cultures sur solutions nutritive. L'excès de Zn se traduit par des teneurs en Zn anormalement élevées (supérieures à 400 ppm) dans la plante. Un déséquilibre nutritionnel peut en résulter et il est démontré que les teneurs en P et Fe des tissus végétaux sont diminuées.

➤ **Carence en Zinc**

Le maïs et le lin sont les plantes annuelles, les plus sensibles à la carence en zinc. Chez les espèces ligneuses il faut citer le pommier, le poirier, la vigne, etc, avec un symptôme commun, la « maladie des rosettes ». Les entre-nœuds sont raccourcis, les feuilles sont petites, cassantes, à bord ondulé avec parfois des plages chlorotiques ; elles sont groupées en rosettes. Les feuilles sont petites et déformés (Coïc et Coppenet, 1989).

➤ **Toxicité du Zinc**

Les symptômes de toxicité au Zn chez les plantes sont observés par un retard de croissance et de flétrissement des parties aériennes (Broadley *et al.*, 2007). Un autre symptôme fréquemment observé est la chlorose, qui entraîne un jaunissement des feuilles entre les nervures. Un excès de Zn perturbe le bon fonctionnement cellulaire en dégradant les chloroplastes et l'absorption de minéraux tels que le phosphore, magnésium et manganèse, ce qui perturbe la synthèse de chlorophylle (Chaney, 1993).

Les effets cytotoxiques du Zn sur les plantes sont multiples. La modification majeure concerne le noyau des cellules de l'extrémité des racines. La chromatine est fortement condensée et certaines des cellules corticales montrent la rupture et la dilatation de leur membrane nucléaire en présence de 7,5 mM de zinc. De plus, le cytoplasme change de structure, avec une désintégration d'organites et le développement de vacuoles (Garty *et al.*, 1992; Rout et Das, 2009).

Le Zn à pH basique peut précipiter comme hydrozincite $(Zn_5(OH)_6(CO_3)_2)$ ou comme $Zn(OH)_2$. Par contre, dans les sols acides ou neutres, le Zn est l'un des éléments traces les plus mobiles (El Zahaby, 1998 ; Ashley, 1996). Dans les sols riches en matière organique, l'ordre de stabilité du métal complexé avec la matière organique suit la série d'Irving-Williams : $Fe^{3+} > Al^{3+} > Cu^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} > Ca^{2+} > Zn^{2+} > Mn^{2+} > Mg^{2+}$. Par rapport à un type de ligand donné, l'ordre de la série est celui de la diminution du rayon ionique du métal (Ashley, 1996). Par ailleurs, certaines études (Harita *et al.*, 1990) montrent que le Zn ne se complexe pas avec la matière organique et que le principal mode de rétention du Zn dans le sol est l'échange ionique.

I.2.4 Interaction entre cadmium et zinc

Le zinc et le cadmium présentent de nombreuses similitudes physiques et chimiques car ils appartiennent tous les deux au groupe II du tableau périodique. Ils se trouvent généralement ensemble dans les minerais et se font concurrence pour divers ligands. Ainsi, l'interaction entre

ces deux éléments dans le système biologique est susceptible d'être similaire. Le fait que le cadmium soit un métal lourd toxique et le zinc un élément essentiel rend cette association intéressante car elle soulève la possibilité que les effets toxiques du cadmium soient évitables ou traitables par le zinc (Das *et al.*, 1997). Hinesly *et al.* (1984) ont indiqué que l'absorption de cadmium et de zinc par les plantes dépendait du pH du milieu de culture. Ravers (1984) a montré que le Cd avait des effets toxiques sur les plantes au niveau de la photosynthèse et a également indiqué divers changements dans les activités biologiques. Des études ultérieures ont confirmé ces résultats et étendu l'interaction à d'autres effets toxiques du cadmium comme l'inhibition de la prolifération cellulaire, l'action cytotoxique (Rosas *et al.*, 1984) et la suppression de la croissance chez les plantes (Chancy *et al.*, 1975). Les mécanismes biochimiques de l'interaction Cd-Zn sont inconnus, mais divers processus cellulaires et subcellulaires tels que le rapport Cd/Zn dans les tissus, l'induction de la synthèse de différents types de métallothionéine, Les caractéristiques de liaison de la métallothionéine, l'altération de l'absorption et la distribution tissulaire d'un métal par un autre, et la compétition au niveau des métalloenzymes, contenant du zinc est connue pour être impliquée dans les interactions. Ces dernières années, il a été suggéré qu'un complexe de liaison au Cd similaire à la métallothionéine existe dans plusieurs plantes supérieures telles que la tomate (Bartolf *et al.*, 1980), le haricot rouge (Weigel et Jager, 1980) et le chou (Wagner, 1984). Par la suite, Fujita et Kawanishi (1986) ont signalé la présence d'un autre type de complexe de liaison au Cd nommé Cd-BPI dans le tissu racinaire de l'acinthe d'eau cultivée dans un milieu contenant du Cd²⁺. Il est susceptible d'être dégradé à la fois par l'acide et le mercaptoéthanol (Das., 1997). Dabin *et al.* (1978) ont conclu que le zinc et le cadmium sont liés à différents ligands dans les racines de riz.

I.2.5 Formes chimiques du Zn dans le sol

D'une façon générale, le Zn dans les sols est plutôt lié aux silicates primaires, aux minéraux argileux et à la matière organique (Loué, 1993), L'espèce ionique la plus commune est le Zn²⁺. Toutefois on peut retrouver d'autres espèces telles : Zn Cl⁺ ; ZnOH⁺ ; Zn(OH)², ZnO ; ZnCO₃, ZnHCO₃ (Kabata-Pendias et Pendias, 1992). et dans la solution du sol sous forme de Zn²⁺ ou plus souvent de complexe soluble avec les matières organiques (Barber et Silberbush, 1984). La proportion de Zn complexe dans la solution de sol augmente avec le pH (5 à 90 %). Le Zn échangeable diminue lorsque le pH augmente. Le Zn réalise aussi des complexes insolubles avec les matières organiques (Bourrelier et Berthelin 1998). La concentration minimale de Zn

en solution est entre pH 7 et 8. La concentration en solution de Zn augmente fortement pour des pH < 6 (OFEFP, 1996).

I.2.6 Définition et caractéristiques des nanoparticules ZnO

Une nanoparticule est une particule dont la taille est inférieure à 100 nm. La particularité d'une nanoparticule réside dans le fait que la majorité des atomes qui la constitue se trouve en surface. Les nanoparticules présentent donc des surfaces d'échanges (surface spécifique) très importantes, de plusieurs centaines de mètres carrés par gramme de particule. Cette surface d'échange confère aux nanoparticules des propriétés physiques et chimiques particulières pouvant entraîner des effets biologiques propres, qui restent encore largement incompris, si elles rentrent en contact avec le vivant. La réactivité de surface des nanoparticules augmente inversement à la taille de la particule. Elle laisse prévoir que les NPs auront une activité biologique plus importante, à masse comparable, que les particules plus grosses. Cela peut être favorable et être utilisé dans des approches thérapeutiques comme transporteurs de médicaments vu leur capacité à franchir les barrières biologiques. Par contre cette propriété peut s'avérer défavorable et engendrer une toxicité associée à leur capacité à générer un stress oxydant et à se disperser dans l'organisme (Oberdorster *et al.*, 2005).

L'oxyde de zinc est un composé chimique d'oxygène et de zinc, corps ionique de formule chimique ZnO à poids moléculaire (81,39 g/mol). Généralement il apparaît comme une poudre blanche. C'est un composé amphotère soluble dans les solutions acides et basiques, c'est-à-dire il présente des propriétés à la fois acides et basiques. Il est, toutefois, plus facilement attaqué en milieu acide fort qu'en milieu basique fort (FDS, 2006).

I.2.7 Origine et utilisation des nanoparticules ZnO

Les ZnO sont des nanoparticules manufacturées donc produites intentionnellement pour de multiples usages (Lanone et Boczkowski, 2010).

➤ Industrie

Les ZnO ont une large gamme d'utilisation dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique, électronique, plastique, textile, matériaux de construction, etc. La nanopoudre de ZnO est actuellement utilisée dans des produits tels que les plastiques, la céramique et le verre. De plus, les ZnO sont des constituants courants des soins personnels, y compris les cosmétiques et les écrans solaires en raison de leur excellente absorption des UV et de leurs

propriétés réfléchissantes (Borm *et al.*, 2006a). La NP ZnO est considérée comme la troisième nanoparticule qui est largement utilisée avec une estimation de la production mondiale totale d'environ 550 et 33 400 tonnes par an (Peng *et al.*, 2017). La NP ZnO est un oxyde métallique, qui est beaucoup plus stable et a une durée de vie plus longue que les désinfectants à base organique ou les agents antimicrobiens. Les avantages de l'utilisation de ces oxydes inorganiques de nanoparticules comme agents antimicrobiens sont leur grande efficacité sur les souches résistantes d'origine pathologique, leur faible toxicité, leur résistance à la chaleur et leur bonne biocompatibilité avec les cellules humaines (Emami et Chehrazi, 2011).

➤ **Agriculture**

La nanotechnologie occupe une place prépondérante dans la transformation de l'agriculture et de la production alimentaire. La nanotechnologie a un grand potentiel pour modifier les pratiques agricoles conventionnelles. Les nanoparticules d'oxyde de zinc, en solution colloïdale, sont utilisées comme engrais. Ce type de nano-fertilisant joue un rôle important en agriculture. Le nano-fertilisant est un nutriment pour les plantes qui est plus qu'un engrais, car il fournit non seulement des nutriments à la plante, mais ravive également le sol à un état organique sans qu'il soit nocif comme les engrais chimiques. L'un des avantages des nano-fertilisants est qu'ils peuvent être utilisés en très petites quantités. Un arbre adulte ne nécessite que 40 à 50 kg d'engrais alors qu'une quantité de 150 kg serait nécessaire pour les engrais ordinaires. Les nanopoudres peuvent également être utilisées avec succès comme engrais et pesticides (Selivanov et Zorin, 2001 ; Raikova *et al.*, 2006). Les ZnO ont le potentiel d'augmenter le rendement et la croissance des cultures vivrières. Le rendement des plants de blé issus de graines traitées avec des nanoparticules métalliques a augmenté en moyenne de 20 à 25 % (Batsmanova *et al.*, 2013). Les graines d'arachide ont été traitées avec différentes concentrations de nanoparticules de ZnO. Un traitement à l'échelle nanométrique au ZnO (taille moyenne des particules de 25 nm) à une concentration de 1000 ppm a favorisé la germination des graines, la vigueur des semis et la croissance des plantes. Les ZnO se sont avérées efficaces pour augmenter la croissance des tiges et des racines des arachides (Prasad *et al.*, 2012).

I.2.8 Phytoxicité des nanoparticules ZnO

Certaines NPs d'oxydes métalliques auraient des effets positifs sur les plantes cultivées par exemple : la pulvérisation de NPs TiO₂ à la dose de 0,0025-0,4 % pourrait favoriser significativement la croissance des épinards. Néanmoins de plus en plus de chercheurs

rappellent la phytotoxicité des NPs à oxydes métalliques pour les plantes cultivés (Hong *et al.*, 2005).

La phytotoxicité des NPs ZnO chez *Arabidopsis* était beaucoup plus forte que celle des solutions contenant la même concentration de Zn soluble, mettant en évidence les effets les plus importants dus à la forme nanoparticulaire (Lee *et al.*, 2010).

Les activités de la NADH oxydase et d'autres marqueurs de stress oxydatif ont augmenté dans les racines, les tiges et les feuilles exposées pendant 15 jours aux NPs ZnO (5 et 50 mg/l). La stimulation variait en fonction des doses de NPs ZnO (Cherningui *et al.*, 2019).

La phytotoxicité de sept nanoparticules d'oxydes métalliques (NPs TiO₂, NPs SiO₂, NPs CeO₂, NPs Fe₃O₄, NPs Al₂O₃, NPs CuO et NPs ZnO) a été évalué sur deux plantes cultivées (maïs et riz) ont montré que la germination des graines n'était affectée par aucune des sept NPs d'oxyde métallique. Cependant à la concentration de 2000 mg/l, l'élongation des racines était significativement inhibée par NPs CuO et NPs ZnO (Yang *et al.*, 2015).

I.2.9 Facteurs influençant la toxicité et la biodisponibilité des nanoparticules ZnO

➤ Taille des particules

Selon Borm *et al.* (2006b), les taux de dissolution des nanoparticules sont contrôlés par le coefficient de diffusion de la molécule de soluté, le volume de la solution, la surface des particules et l'épaisseur de la sous-couche diffusive lorsque d'autres facteurs environnementaux tels que le pH et la température sont fixés. Des taux de dissolution plus élevés seraient attendus pour les nanoparticules de plus petite taille en raison de leur augmentation de la surface spécifique. Reed *et al.* (2012) soulignent l'augmentation significative de la solubilité avec la taille décroissante de particule de ZnO ; de même, l'augmentation de la superficie est une raison importante pour induire des taux cinétiques de dissolution (fig. 3) (Mudunkotuwa *et al.*, 2012).

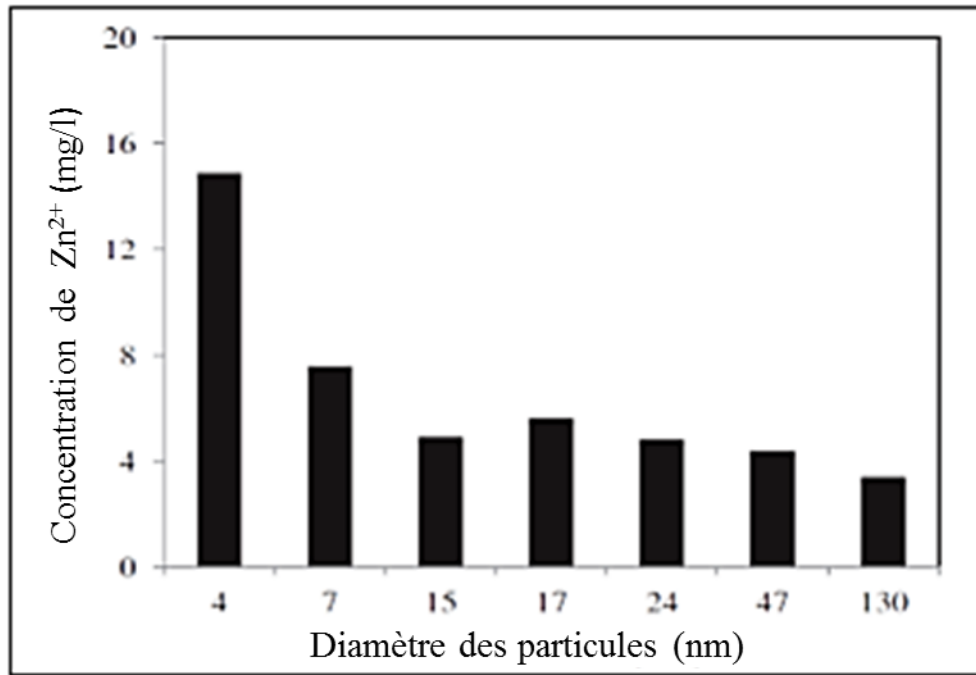


Figure 3 : Dissolution de nanoparticules de ZnO (concentration [Zn²⁺] mesurée après 24 h en suspension aqueuse en fonction de la taille des particules. Concentration initiale de ZnO = 500 mg/l ; pH =7,5. (Mudunkotuwa *et al.*, 2012).

➤ pH du milieu

Le pH joue un rôle important dans la dissolution des particules de ZnO (Yamabi et Imai, 2002). L'examen systématique de la cinétique de libération du Zn²⁺ dans différentes conditions suggère que le pH influence significativement sur la dissolution du NP ZnO (Miao *et al.*, 2010). Comme pour la NP TiO₂, la NP ZnO peut également adsorber plusieurs éléments tels que As, Al, Mo, Hg, Pb, Cu, Ni et Cd (Mahdavi *et al.*, 2012 ; Sheela *et al.*, 2012 ; Gagné *et al.*, 2013), modifiant leurs spéciations dans le milieu et donc leur biodisponibilité. Lorsqu'ils sont internalisés, ces complexes NP-métal peuvent subir une dissociation suivie d'une dissolution des NPs en raison des conditions acides du milieu intérieur, entraînant la libération des xénobiotiques adsorbés et augmentant ainsi considérablement leur concentration dans les tissus des organismes (Gonçalo *et al.*, 2016).

➤ Température

La température peut également affecter la dissolution de NP ZnO. Une diminution constante de la solubilité du ZnO à 37 °C par rapport à 20 °C a été signalée (Reed *et al.*, 2012).

➤ **Matière organique**

L'influence de la matière organique naturelle sur la dissolution du ZnO dépend de la structure chimique spécifique de la matière organique naturelle. La matière organique peut améliorer la dissolution du ZnO, en fournissant des agents chélatants pour les ions Zn^{2+} , ou inhiber la dissolution par adsorption à la surface des particules et en bloquant l'interaction avec les molécules d'eau (Ma *et al.*, 2013).

➤ **Phosphate**

Le phosphate est un autre composant qui peut avoir une influence significative sur la dissolution du ZnO par précipitation et/ou transformation microstructurale (Ma *et al.*, 2013).

➤ **Eclairage**

Quelques études ont documenté que la toxicité des NPs de ZnO était considérablement augmentée sous la lumière naturelle du soleil (Lipovsky *et al.*, 2009) par rapport à l'éclairage fluorescent ou sombre de laboratoire, bien que ces études n'étaient pas initialement axées sur la phototoxicité des NPs de ZnO. La toxicité photo-induite a été démontrée pour la première fois par Ma *et al.* (2011) qui ont rapporté que sous la lumière naturelle du soleil, les NPs ZnO (60 et 100 nm) ont causé la mortalité du nématode *Caenorhabditis elegans* dans les deux heures avec une CL50 à 2 h de 25 mg/l, alors que les mêmes concentrations de NP ZnO n'ont induit aucun effet indésirable en laboratoire en conditions d'éclairage ou d'obscurité. Cette phototoxicité était étroitement liée à la génération photo catalytique de ROS par les NP. Certaines NP de ZnO (c'est-à-dire celles dopées avec un « atome d'impureté ») se sont avérées être photo-activées sous la lumière visible et provoque des effets destructeurs sur les cellules (Lipovsky *et al.*, 2011) ou des bactéries (Sapkota *et al.*, 2011).

I.2.10 Phytodisponibilité et bioaccumulation des nanoparticules ZnO

Les données disponibles sur l'effet des nanomatériaux sur la flore sont limitées (Bernhardt *et al.*, 2010). Cependant des travaux sur des végétaux ont rapporté que les NPs peuvent être absorbées (Schwab *et al.* 2015), transportées (Wang *et al.*, 2012) et concentrées dans les vacuoles, les noyaux et les plasmodesmes (Schwab *et al.*, 2015), modifiant ainsi les processus physiologiques de la plante ainsi que sa croissance et son développement (Garcia-Sanchez *et al.*, 2015).

I.2.11 Mécanisme de défense des plantes contre le stress oxydatif

D'après Kaya *et al.* (2015), les NPs ZnO engendrent un stress oxydatif aux végétaux et les plantes photosynthétiques y sont plus exposées, en raison de leurs conditions oxygénées, de l'abondance des photosensibilisants et des acides gras polyinsaturés (AGPI) dans la membrane plastidiale. En présence de lumière, les chloroplastes et les peroxysomes sont la principale source de production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Parent *et al.*, 2008). Selon Yadav (2010) l'augmentation des ROS expose la cellule au stress oxydatif provoquant la peroxydation lipidique, la détérioration des macromolécules biologiques, le blocage des ions... Les espèces réactives de l'oxygène, générées lors de l'exposition aux métaux ou à d'autres stress, peuvent réagir avec la plupart des constituants cellulaires en oxydant les lipides, les protéines, l'ADN et d'autres molécules. Ils peuvent même mener à la mort cellulaire (Garg et Manchanda, 2009). Pour pallier l'effet toxique du stress oxydatif, la plante active les antioxydants enzymatiques (CAT, POX et SOD) et non enzymatiques (proline) (Sewelam *et al.*, 2016). Ces enzymes sont les éléments clés du mécanisme de défense (Andre *et al.*, 2010).

I.3 Colza

Les céréales et leurs dérivés constituent les principales ressources alimentaires de l'humanité, en raison de leur source d'énergie et leur grande richesse en protéines, elles servent également à l'alimentation animale (15% de la production) et à des usages non alimentaires (Benhamimed et Chaoui, 2016). Il faut étudier l'apport éventuel des cultures comme le colza pour les rotations céréalières en termes agronomiques mais aussi économiques et termes environnementaux (Schneider *et al.*, 2010).

I.3.1 Caractéristiques et origine du colza

Le colza, *Brassica napus L.* (fig. 4) appartient à la sous-tribu *Brassicinae*, à la tribu *Brassiceae* et à la famille des *Brassicaceae* (crucifères), parfois appelée la famille de la moutarde. *B. napus* a un feuillage vert bleuâtre foncé, lisse ou présentant quelques poils épars près des marges, et partiellement enserrant. Les tiges sont bien ramifiées, bien que le degré de ramification dépende de la variété et des conditions environnementales ; les branches prennent naissance à l'aisselle des feuilles les plus hautes de la tige, et chacune se termine par une inflorescence. Cette dernière est une grappe allongée, les fleurs sont jaunes, groupés au sommet

mais pas plus haut que les bourgeons terminaux, et s'ouvrent vers le haut à partir de la base du racème (Bennouna, 2018).

La culture des Brassica provient d'Inde, de Chine et du Japon. Leur continent d'origine serait l'Asie où elles sont cultivées depuis quelques milliers d'années. Le mot chinois pour Brassica serait apparu il y a 4500 ans (Bailleul, 2012).

Ce sont des plantes à croissance rapide et au cycle de vie court dont certaines espèces sont utilisées en agriculture. Il est donc facile d'obtenir des semences qui ont un taux de germination élevé, un avantage lorsque vient le temps de semer sur des grandes superficies (Dambri et Karrad, 2021).



Figure 4 : Graines et plantes de colza.

I.3.2 Utilisations du colza

Le colza est destiné essentiellement à l'extraction de l'huile à partir de ses graines pour des fins alimentaires et industrielles, Les tourteaux obtenus après extraction de l'huile sont très riches en protéines et constituent un bon aliment pour le bétail (Nabloussi, 2015).

➤ **Phytoremédiation**

Le colza (*Brassica napus L.*) une plante idéale pour la phytoremédiation (Zhang et Song, 2018). Plusieurs gènes, semblent intervenir dans la détoxification du Cd (Zhang *et al.*, 2018b). D'après Ebbes et Kochian (1997), *B. napus* et *B. rapa*, ont montré une tendance similaire d'accumuler un taux modéré de métaux lourds. Elles peuvent être adaptées à une utilisation en phytoremédiation à divers métaux tel que l'argent.

➤ **Industrie**

Le colza est une source importante d'huile végétale comestible, de fourrage végétal, d'alimentation animale, d'engrais vert et de biodiesel. Les abeilles ne sont pas les seules à profiter du colza et à l'utiliser pour leur production de miel. En raison de sa composition particulièrement riche en acides gras, le colza est également une matière première de choix pour l'alimentation humaine dans la production de margarine, de mayonnaise et d'huile de cuisson. Du point de vue physiologie nutritionnelle, l'huile de colza est l'une des huiles de cuisson les plus commercialisées. L'industrie chimique utilise également le colza comme matière première. Grâce à sa composition spéciale en acides gras, il convient comme lubrifiant ou huile hydraulique dans le secteur des machines (Zhang et Song, 2018). Le colza figure parmi la liste des espèces habituellement utilisées dans les essais sur plantes selon les normes OCDE n° 208 juin 2021, NF EN ISO 9167 juin 2019.

Chapitre II

Matériel et Méthodes

II Matériel et Méthodes

Les tests de germination, de l'émergence et de la croissance sont conduits dans un phytotron au niveau du laboratoire « culture *in vitro* » alors que les analyses biométriques, physio-morphologiques et biochimiques sont effectuées au niveau du laboratoire « Analyses Environnementales » du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt).

II.1 Préparation et méthodologie de semis (réalisation de l'essai)

II.1.1 Substance d'essai

Les essais réalisés ont porté sur la toxicité du cadmium en présence de nanoparticules d'oxyde de zinc. Ainsi les substances chimiques testées sont d'une part des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) de taille inférieure à 100 nm, de marque Sigma-Aldrich (Germany), CAS N° 1314-13-2, et d'autre part du sulfate de cadmium octahydraté ($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) de marque BIOCHEM (Quebec), CAS N° 77790-84-3.

II.1.2 Matériel végétal utilisé

II.1.2.1 Critère de sélection de l'espèce de l'essai et des graines

Le choix des espèces et des graines devra tenir compte des caractéristiques décrites dans la norme OCDE n° 208. Le matériel végétal ayant fait l'objet de cette étude sont des graines de colza. Elles ont été choisies en raison de leur valeur agricole et économique. Les semences ont été inspectées visuellement à l'aide d'une loupe binoculaire pour trier les graines saines de celles endommagées morphologiquement ou décolorées. Elles sont ainsi choisies de taille similaire, et selon leur état sanitaire et la couleur du tégument.

II.1.2.2 Préparation des graines

Les graines sont trempées dans une solution d'hypochlorite de sodium (NaClO) à 2,5 % pendant 15 minutes afin de les décontaminer de tous types de contaminants fongiques. Elles sont rincées abondamment à l'eau du robinet puis à l'eau distillée. Les graines sont ensuite conservées au réfrigérateur à 4°C pendant 24 heures pour lever tout état de dormance.

II.1.2.3 Vérification du pouvoir germinatif des graines

Avant d'entamer l'expérience de germination, le pouvoir germinatif des graines a été vérifié comme suit : à raison de 3 répétitions, 10 graines placées dans des boîtes de Pétri, ont été imbibées à l'eau déminéralisée (fig. 5) et maintenues dans une enceinte de germination à l'obscurité, à une température de 23°C pendant 7 jours.



Figure 5 : Vérification du pouvoir germinatif des graines de colza.

II.1.3 Substrat d'essai

La substance d'essai (sol) a été prélevée de Guelma (commune : Boumahra Ahmed), près d'un champ de culture sans engrais et pesticides (Bio) (fig. 6).

Nos expériences sont menées dans des pots en plastique de 400 g de sol.



Figure 6 : Localisation du lieu d'échantillonnage du sol en provenance de Guelma (Photo Google Earth).

II.1.4 Caractéristiques physico-chimiques du substrat d'essai

II.1.4.1 Granulométrie

La détermination de la granulométrie a été effectuée selon la méthode de Robinson normalisée (NF X 31-107) selon l'AFNOR (2003). Les prélèvements et tamisages sont réalisés après destruction de la matière organique par l'eau oxygénée (H_2O_2) sur une prise d'essai d'environ 20 g. La méthode à la pipette est utilisée pour déterminer la fraction des particules les plus petites. La méthode est basée sur la différence de vitesse de sédimentation entre les particules. La sédimentation des particules résulte des deux forces opposées : gravité et friction entraînant un mouvement dans un milieu fluide. Dans la méthode "ROBINSON", un échantillon est pipeté à différentes périodes et à différentes profondeurs de la suspension du prélèvement dans une éprouvette.

Les proportions des classes de particules suivantes sont déterminées :

- Argiles (A) : $< 2 \mu m$.
- Limons fins (LF) : $2 \mu m$ à $20 \mu m$.
- Limons grossiers (LG) : $20 \mu m$ à $50 \mu m$.
- Sable très fin (STF) : $100 \mu m$.
- Sables fins (SF) : $200 \mu m$.
- Sables grossiers (SG) : $500 \mu m$.

T=31 °C			
temps de chute pour 10 cm			
temps	35 sec	3min 40 sec	6 h 13 min
fraction	A+LF+LG	A+LF	A

La détermination des fractions les plus fines ($<50 \mu m$) s'effectue *via* 3 prélèvements successifs, à la pipette de Robinson, dans une suspension de sol en cours de sédimentation.

II.1.4.2 Potentiel hydrogène (pH)

Le pH est une propriété du sol importante à connaître. C'est le reflet de la concentration de la phase liquide du sol en ions H^+ et la capacité de la phase solide à libérer des cations Al^{3+} . (Calvet, 2013). Le pH est mesuré selon la méthode ISO 10390 (2004) dans une suspension de 10 g de sol dilué à 1/5 (fraction volumique) dans de l'eau (pH de H_2O). Il a été mesuré dans le surnageant à l'aide d'un pH mètre (Model Consort C6030) de terrain, étalonné avec des solutions dont le pH est connu. Il est exprimé en unité pH.

II.1.4.3 Conductivité électrique (CE)

La conductivité électrique est la mesure de la capacité des ions à transporter le courant électrique. Ce dernier s'effectue par la migration des ions dans un champ électrique produit par

un courant alternatif. La conductivité d'une solution dépend de la concentration des ions présents et de leur vitesse de migration sous l'influence de la force électromotrice appliquée. La conductivité d'un sol est une mesure de la quantité d'ions présents et qui pourraient se dissoudre en présence d'eau ; ainsi elle renseigne sur la salinité des sols.

Lors de l'analyse du sol, ce paramètre a été déterminé dans une suspension sol/eau distillée selon un rapport pondéro-volumique de 1/5 selon la méthode ISO 11265 (1994). La conductivité électrique est mesurée sur le surnageant obtenu après centrifugation à l'aide d'un conductimètre (Model : Consort C6030). Elle est exprimée en ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

II.1.4.4 Humidité résiduelle (%HR)

En dessous du point de flétrissement, la quantité d'eau dans le sol peut continuer de diminuer par évaporation. Ce changement d'état peut se faire soit au contact de l'atmosphère, les molécules d'eau remontant en surface par capillarité, soit au sein des pores du sol en passant de l'état liquide à l'état gazeux. Lorsque l'eau présente dans les deux phases du sol, liquide et gazeuse, est en équilibre, le taux d'humidité résiduelle (HR) ou point d'hygroscopicité, est atteint (Musy et Soutter 1991). Même après une longue période de sécheresse, un sol contient toujours une fraction d'eau liée à la matrice du sol par adsorption. L'assèchement total d'un sol ne peut être obtenu que dans le cadre d'expérimentation en laboratoire (séchage au four à 105°C).

L'humidité résiduelle est déterminée par pesée différentielle du sol séché à l'air ambiant et chauffé à 105°C à l'étuve (Model Memmert). Un échantillon de sol (5 g) est séché à 105°C pendant 24 h, jusqu'à poids constant, puis pesé à nouveau après refroidissement dans un dessiccateur.

Soit en gramme :

Pv: Poids de la boîte à tare vide.

Pa : Poids de la boîte à tare plus le sol séché à l'air.

Pe : Poids de la boîte à tare plus le sol séché à l'étuve 105°C .

$$\mathbf{H \% = 100 * (Pa - Pe) / (Pe - Pv)}$$

II.1.4.5 Matière organique (%MO)

La méthode Walkley et Black (1934) consiste à oxyder la matière organique sans chauffage externe par une solution sulfurique de bichromate de potassium ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) en excès qui sera ensuite dosé par une solution de fer ferreux, le sel de Mohr. Ce dosage a été effectué à l'aide du titrateur Crison qui est muni d'une électrode redox permettant de détecter la différence de

potentiel au sein de la solution à doser permettant de déterminer la quantité de sel de Mohr ayant réagi avec le bichromate en excès. La quantité de sel de Mohr versée dans la solution à doser permet de calculer la quantité de carbone organique présente dans le sol. Elle ne peut être utilisée si les sols contiennent plus de 20 % de matière organique.

Considérant que 1 ml de dichromate de potassium 1N = 4 mg de carbone, le C exprimé en % est calculé selon la formule suivante :

$$C \% = \frac{\text{ml de dichromate potassium 1 N en excès} * 0,004 * 100}{\text{Poids du sol (g)}}$$

II.1.4.6 Capacité d'échange cationique (CEC)

La capacité d'échange cationique (CEC) correspond à la quantité de charges positives portées par les cations susceptibles d'être fixés, de façon réversible, sur les sites chargés négativement de certains constituants du sol. On distingue les sites à charges permanentes dont le nombre varie peu avec les conditions de milieu et les sites à charges variables (matière organique) dont la quantité est fortement liée au pH.

La méthode à l'oxalate d'ammonium dans la norme NF X31-130 AFNOR (1999) consiste à mesurer la CEC ou quantité de cations saturant fixe caractérisant un état d'équilibre entre l'échantillon de sol et un environnement expérimental donné. Les valeurs obtenues sont fonction de milieu (cation saturant, pH, ...) ainsi que des conditions de réalisation influençant le rendement des réactions d'échange.

$$T = \frac{(V2 - V1) * C * 50 * 2 * 100}{P * F}$$

Soit :

T : capacité d'échange cationique exprimé en meq/100g du sol.

V2 : volume de titration du témoin en ml.

V1 : volume de titration d'échantillon en ml.

C : concentration de l'acide de titration en mol/l.

P : prise d'essai en g.

F : volume du filtrat en ml.

II.1.4.7 Azote total (%N)

L'azote se trouve dans toutes les fractions des matières organiques du sol, dans des composés très divers, libres ou liés aux minéraux et aux substances humiques (Calvet, 2013).

La détermination de l'azote total a été effectuée selon la méthode Kjeldahl selon la norme ISO 11261 (1995). L'azote du sol est minéralisé se forme de NH_4^+ en utilisant de l'acide sulfurique concentré (H_2SO_4). Le NH_4^+ est transformé en NH_3 en présence de soude (NaOH) en excès. Le NH_3 est ensuite déplacé par distillation et piégé dans une solution d'acide borique (H_3BO_3) où il est titré à l'aide de H_2SO_4 1N, en présence d'un indicateur coloré, le vert de bromocrésol et rouge de méthyl. Les résultats sont exprimés en % selon la formule suivante :

$$\text{N (\%)} = \text{N} ((\text{V}_1 - \text{V}_0) \times \text{M} \times 14 \times 100) / \text{m}$$

Soit :

V_1 : le volume en ml d'acide sulfurique utilisé pour la titration de l'échantillon.

V_0 : le volume en ml d'acide sulfurique utilisé pour la titration de l'essai à blanc.

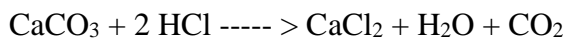
M : la concentration de l'acide sulfurique.

m : la masse, en grammes, de l'échantillon de sol séché à l'air.

14 : la masse molaire de l'azote.

II.1.4.8 Calcaire total (% CaCO_3 T)

Les carbonates de calcium sont les constituants majeurs qui interviennent dans la fixation des ETM, soit par adsorption, soit par précipitation d'hydroxydes ou de carbonates, ou encore par insertion dans le réseau de CaCO_3 (Perrono, 1999). Ce paramètre a été déterminé à l'aide de calcimètre de Bernard selon la norme NF-ISO 10693 (1995). Cette technique est basée sur le dosage des carbonates dont la quantité est proportionnelle au volume de CO_2 dégagé lors de leur réaction avec l'acide chlorhydrique selon la réaction ci-dessous où une mole de CO_2 correspondant à une mole de CaCO_3 :



Cette réaction permet d'utiliser une méthode gazométrique puisqu'une mole de carbonate de calcium (CaCO_3) d'un échantillon de sol permet le dégagement, par action de l'acide chlorhydrique (HCl), d'une mole du gaz carbonique (CO_2). Les taux en calcaire total sont exprimés en % selon la formule suivante :

$$\text{CaCO}_3 \% = \frac{\text{V}' * 0.3}{\text{V} * \text{P}} * 100$$

Soit :

V' : volume de CO_2 produit par 0.3 g de CaCO_3 sec et pur en ml.

V : volume de CO_2 produit par la quantité de CaCO_3 contenu dans un poids P de sol en ml.

P : prise d'essai en g.

II.1.4.9 Calcaire actif (%CaCO_{3A})

Le calcaire actif correspond au calcaire fin facilement solubilisé. La méthode de Drouineau, modifiée par Galet, normalisée (NF X31-106) selon l'AFNOR (1987) dont le principe repose sur la précipitation du calcaire sous forme d'oxalate de calcium en présence d'oxalate d'ammonium ajouté à 1 g de sol tamisé et laissé en contact pendant 2 heures. Après filtration, à 20 ml de filtrat sont additionnés 100 ml d'eau distillée et 5 ml d'acide sulfurique. Après chauffage au bain-marie à 70°C pendant 10 min, la titration de l'excès de l'oxalate est effectuée par manganimétrie (KMnO₄ à 0,1N) avant et après son contact avec le sol. La différence entre les deux titrations correspond à la quantité de calcium du carbonate ayant réagi sur l'oxalate d'ammonium. Les résultats sont exprimés en g/kg et en % selon la formule suivante :

$$m_{CaCO_3} = C_{KMnO_4} * (V' - V) * M_{CaCO_3}$$

Soit : P : poids de l'échantillon de sol en gramme.

V : volume de KMnO₄ titré pour 20 ml de la solution après contact avec le sol.

V' : volume de KMnO₄ titré pour 20 ml de la solution d'oxalate d'ammonium.

m_{(NH₄)₂C₂O₄} : masse d'oxalate en excès (en g/kg et en %).

M_{(NH₄)₂C₂O₄} : masse molaire calcaire CaCO₃ 100.0869 g/mol.

C_{KMnO₄} : concentration du permanganate en mol/l (0.1N=0.02 mol/l).

À l'équilibre : $n_{KMnO_4} = n_{CaCO_3}$

$$\checkmark n_{KMnO_4} = C_{KMnO_4} * V_{KMnO_4}$$

$$\checkmark n_{CaCO_3} = m_{CaCO_3} / M_{CaCO_3} \rightarrow C_{KMnO_4} * V_{KMnO_4} = m_{CaCO_3} / M_{CaCO_3}$$

$$m_{CaCO_3} = C_{KMnO_4} * V_{KMnO_4} * M_{CaCO_3}$$

Si la teneur en calcaire total inférieure à 13 % (1g/25ml)

✓ Pour 25 ml d'oxalate :

$$m_{CaCO_3} = \frac{C_{KMnO_4} * V_{KMnO_4} * M_{CaCO_3} * 25}{20}$$

✓ Pour 100 g :

$$m_{CaCO_3} = \frac{C_{KMnO_4} * V_{KMnO_4} * M_{CaCO_3} * 25}{20 * P} * 100$$

$$m_{CaCO_3} = 0.02 * (V' - V) * 10^{-3} * 100.0869 * 25 * 100 / 20$$

$$m_{CaCO_3} = 0.25 * (V' - V) \text{ en \%}$$

$$m_{CaCO_3} = 2.5 * (V' - V) \text{ en g/kg}$$

II.1.4.10 Phosphore assimilable (P₂O₅)

Le phosphore assimilable appelé aussi réserve assimilable ou fraction libre, est le phosphore susceptible d'être absorbé par les racines. L'échantillon (1 g du sol) est mis en contact avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO₃), suivant la norme internationale NF ISO 11263 AFNOR (1995). L'extrait obtenu est dosé par spectrophotocolorimétrie.

Les résultats obtenus sur UV-VIS sont des concentrations massique C en ppm (mg/l)
La teneur en phosphore en mg/g du sol est déterminée par la formule suivante :

$$m = 2 * C$$

m : masse du phosphore en mg/g du sol.

C : concentration du phosphore massique en ppm (mg/l).

II.1.5 Préparation des concentrations de Cd et de NPs ZnO et semis des graines

Les différentes concentrations de nanoparticules de ZnO à (tab. 2) sont ajoutées au sol sec puis bien mélangée jusqu'à homogénéisation (fig. 7). Le sol est imbibé à l'eau du robinet puis transféré dans des pots en plastique à fond perforé. Ces derniers sont, au préalable, désinfectés à l'hypochlorite de sodium (NaClO) afin d'éliminer tous types de contaminants fongiques, puis rincés plusieurs fois à l'eau du robinet. Neuf graines de colza sont semées par pot à raison de 5 répétitions par traitement (5 pots/traitement). Les pots sont placés dans des bacs d'irrigations pour assurer l'apport en eau et éviter toute éventuelle précipitation de Cd et de NPs ZnO. L'essai est mené dans une serre (fig. 8) où la température est contrôlée (30°C ± 2), l'humidité est en fonction de cette température et de la quantité d'eau d'irrigation. La maison de verre est couverte de vitres, qui laissent bien passer la lumière du soliel (lumière ambiante).

Tableau 1 : Concentrations de Cd et de nanoparticules ZnO de l'essai.

Traitement et codification	Concentrations de cadmium/kg du sol	Concentrations de NPs ZnO/kg du sol
T ₀ (témoin)	0 mg	0 mg
T ₁	2 mg	50 mg
T ₂	2 mg	100 mg
T ₃	2 mg	150 mg
T ₄	2 mg	1000 mg
C	2 mg	0 mg

T : traitement ; C : contrôle

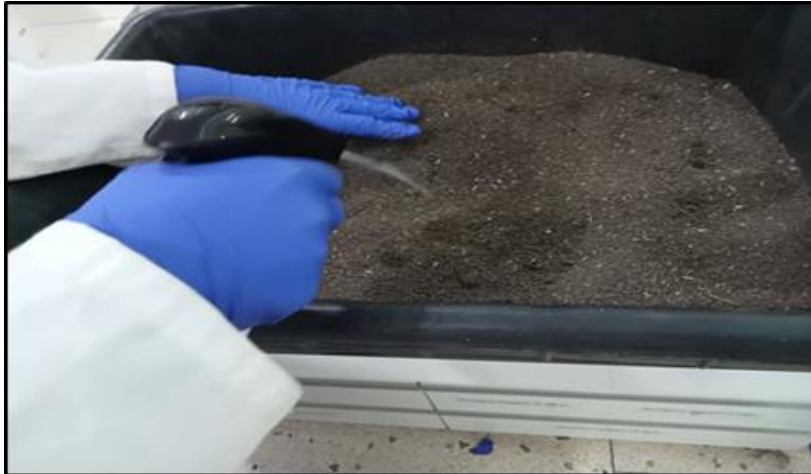


Figure 7 : Mélange du sol avec le Cd et les nanoparticules ZnO.



Figure 8 : Serre expérimentale du CRBt.

II.1.6 Prélèvement des échantillons

Pour évaluer les paramètres biométriques et physio-morphologiques, les échantillons des plantes du colza sont prélevés entièrement (partie foliaire). Par contre pour les paramètres biochimiques, la récolte de la partie aérienne a été effectuée le jour même de l'analyse.

II.2 Paramètres biologiques

L'évaluation des effets toxiques de Cd et des NPs ZnO à différentes concentrations sur les paramètres biométriques (le taux de germination des graines, l'élongation foliaire), les paramètres physio-morphologiques (le poids frais des feuilles et la chlorophylle) et les paramètres biochimiques, y compris les protéines et la malondialdéhyde (MDA).

II.2.1 Paramètres biométriques

II.2.1.1 Taux de germination

Le taux de germination est le rapport entre le nombre de graines germées et le nombre de graines semées (fig. 9). Il est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de germination (\%)} = \left(\frac{\text{nombre de graines germées}}{\text{nombre de graines semées}} \right) \times 100$$



Figure 9 : Germination des semis de colza.

II.2.1.2 Elongation foliaire (EF)

La longueur foliaire (EF) est mesurée à l'aide d'une règle, en prenant en considération la longueur de toute la tige. Les résultats sont exprimés en cm.

II.2.2 Paramètres physio-morphologiques

II.2.2.1 Poids frais des feuilles (PFF)

Immédiatement après la récolte, le poids frais de la partie aérienne de chaque plante a été déterminé par pesée à l'aide d'une balance de précision.

II.2.2.2 Chlorophylle

L'extraction des pigments chlorophylliens des tissus foliaires a été réalisée suivant la méthode de Mc Kinney *et al.* (1941) cités par Arnon (1949). Elle consiste à broyer environ 500 mg de feuilles fraîches dans une solution d'acétone à 80 %, en présence de quelques milligrammes de sable pour optimiser la libération des pigments chlorophylliens. Après filtration, la lecture de la densité optique des filtrats est effectuée par spectrophotométrie aux longueurs d'ondes 663 nm et 646 nm, après étalonnage de l'appareil avec la solution témoin de

l'acétone à 80%. Les résultats sont exprimés en mg/g de MF (Matière Fraiche) et les concentrations en chlorophylle (a) et (b) sont déterminées à l'aide des équations suivantes :

$$\checkmark \text{ Chl. (a) mg/g MF} = [12,7 \cdot \text{DO (663)} - 2,69 \cdot \text{DO (645)}] \cdot 0,1$$

$$\checkmark \text{ Chl. (b) mg/g MF} = 22,9 \cdot \text{DO (645)} - 4,69 \cdot \text{DO (663)} \cdot 0,1$$

$$\checkmark \text{ Chl. totale mg/g MF} = \text{Chl (a)} + \text{Chl (b)}$$

II.2.3 Paramètres biochimiques

II.2.3.1 Protéines

Cette méthode est basée sur l'absorption du colorant bleu de Coomassie G250. En milieu acide, ce colorant s'absorbe (fixation par des liaisons non covalentes) sur les protéines, et forme un complexe coloré présentant un maximum d'absorption à 595 nm. Le changement de colorations se mesure facilement par spectrophotométrie (Bradford, 1976).

II.2.3.2 Malondialdéhyde (MDA)

Le niveau de peroxydation lipidique est déterminé en mesurant le taux de malondialdéhyde (MDA). Des morceaux de feuilles (0,5 g) sont broyés dans 5 ml de solution d'extraction d'acide trichloracétique (TCA 5%). Le mélange est centrifugé à 13000 rpm pendant 20 min. La teneur en MDA dans le surnageant est mesurée par la réaction de l'acide thiobarbiturique (TBA) selon la méthode TBA corrigée (Hodges *et al.*, 1999). Brièvement, 2 ml de surnageant sont ajoutés à 3 ml de TBA 0,5% comprenant 0,5% de TCA. Le mélange est chauffé et maintenu à 95°C pendant 30 min, puis refroidi dans de la glace et centrifugé à 13000 tr/min pendant 15 min. Le surnageant est détecté à 600 nm, à 532 nm et à 450 nm. La concentration de MDA, exprimée en $\mu\text{mol/ml}$, est déterminée par l'équation suivante :

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/ml}) = 6.45 \times (\text{DO532} - \text{DO600}) - 0.56 \times \text{DO450}$$

II.3 Traitement et analyse des résultats

Dans un premier temps, les indicateurs des statistiques descriptives (moyenne, écart type, minimum et maximum) ont été déterminés systématiquement. Les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel XLSTAT (XLStat 2016). La normalité des données a été vérifiée en utilisant le test Shapiro-wilk, et le test de Bartlett pour vérifier l'homoscédasticité. Les ensembles de données ne sont pas normalement distribués, une analyse de Kruskal-Wallis est appliquée pour apprécier l'effet des concentrations de Cd et de NPs ZnO sur les différents paramètres évalués.

Chapitre III

Résultats et Discussion

III Résultats et Discussion

III.1 Paramètres physico-chimiques du sol

La caractérisation physico-chimique du sol prélevé dans la région de Guelma, pour effectuer les tests de phytotoxicité, a porté sur les propriétés suivantes : la granulométrie, le potentiel hydrogène (pH), la conductivité électrique (CE), l'humidité résiduelle (%HR), le carbone (%C), la matière organique (%MO), la capacité d'échange cationique (CEC), l'azote (%N), le calcaire total (%CaCO_{3T}), le calcaire actif (%CaCO_{3A}), et le phosphore assimilable (P₂O₅). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Paramètres physico-chimiques du sol prélevé dans la région de Guelma.

Paramètre	Moyenne ± SD
Granulométrie	Argile : 49,27 % Limon : 47,06 % Sable : 3,65 %
pH	pH = 7,70 ± 0,04
Conductivité électrique	CE (µS/cm) = 758 ± 0
Humidité résiduelle	HR (%) = 3,73 ± 0,11
Matière organique et Carbone organique	MO (%) = 6,63 ± 0,31 C (%) = 3,85 ± 0,18
Capacité d'échange cationique (CEC)	CEC (meq/100g du sol) = 49,83 ± 2,25
Azote	N (%) = 0,75 ± 0
C/N	C/N = 5,13
Calcaire total	CaCO _{3T} (%) = 11,22 ± 0,86
Calcaire actif	CaCO _{3A} (%) = 1,82 ± 0,52
Phosphore assimilable	P ₂ O ₅ (mg/g du sol) = 7,93 ± 0,61

III.1.1 Granulométrie

La détermination des classes texturales du sol est obtenue *via* le triangle textural américain de l'*United States Department of Agriculture* (USDA) (fig. 10). Ainsi, avec 49,27 % d'argile, 47,06 %, de limon et 3,65 % de sable, la texture du sol est limono-argileuse.

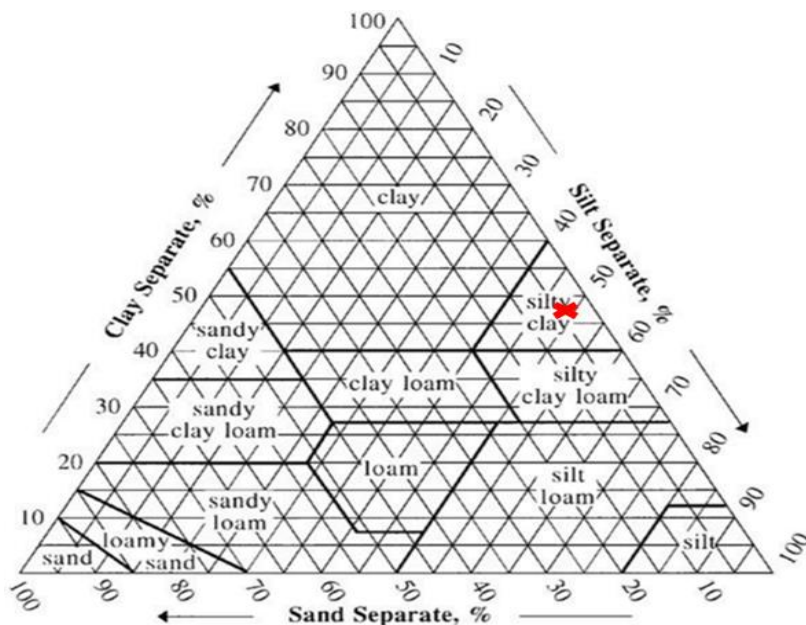


Figure 10 : Classes texturales du sol prélevé à Guelma.

III.1.2 Potentiel hydrogène, pH

La détermination du pH du sol est un indicateur de son acidité, de sa neutralité, ou de son alcalinité. La grille d’appréciation du pH des sols (SSDS, 1993) a permis de définir le type de sol (tab. 3). Ainsi le pH du sol étant $7,70 \pm 0,04$ (tab.2), permet de le qualifier de légèrement alcalin.

Tableau 3 : Grille d’évaluation de la nature des sols en fonction du pH (SSDS, 1993).

Nature	pH
Fortement acide	< 5,0
Acide	5,0-6,0
Légèrement acide	6,0-6,6
Neutre	6,6-7,4
Légèrement alcalin	7,4-7,8
Alcalin	>7,8

III.1.3 Conductivité électrique

Comme pour l’acidité, la salinité du sol est qualifiée à partir de la composition ionique de la solution du sol (Calvet, 2013). D’après la grille d’appréciation de la salinité du sol (SSDS, 1993) (tab. 4), la conductivité électrique ($758 \pm 0 \mu\text{S}/\text{cm}$) (tab. 2) révèle un sol à faible salinité.

Tableau 4 : Grille d'appréciation de la salinité de sol en fonction de la conductivité électrique (SSDS, 1993).

Classe	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
Non-salin	0-200
Salinité très faible	200-400
Salinité faible	400-800
Salinité modérée	800-1600
Salinité élevée	≥ 1600

III.1.4 Matière organique et carbone organique

La matière organique est en grande partie responsable de la stabilité physique et de la fertilité chimique du sol (Charman et Roper, 2007).

Le taux du carbone organique du sol est $3,85 \pm 0,18 \%$. Selon la grille d'appréciation (tab. 5) proposée par Hazelton et Murphy (2007), le sol possède un taux très élevé en carbone organique. La teneur en matière organique se calque sur celle du carbone organique.

Tableau 5 : Grille d'appréciation des taux de carbone organique dans le sol (Hazelton et Murphy, 2017).

Classe	C (%)
Taux extrêmement faible	$< 0,4$
Taux très faible	0,4-0,6
Taux faible	0,6-1,0
Taux modéré	1,0-1,8
Taux élevé	1,8-3,0
Taux très élevé	$> 3,0$

III.1.5 Capacité d'échange cationique

La CEC conditionne des processus très importants, notamment la nutrition minérale des végétaux et la rétention des polluants (Calvet, 2013). Elle fournit aussi un effet tampon aux changements de pH, des nutriments disponibles, des niveaux de calcium et des changements structuraux du sol (Hazelton et Murphy, 2017). C'est une grandeur qui sert à apprécier la qualité globale des sols. Selon les classes (tab. 6) établies par Couronne (2015), le sol a une capacité d'échange cationique très élevée ($\text{CEC} = 49,83 \pm 2,25 \text{ meq}/100\text{g}$).

Tableau 6 : Classement de la capacité d'échange cationique des sols (Couronne, 2015)

Classes	CEC (meq/100g du sol)
Faible	<9
Moyen	9-12
Correct	12-20
Élevée	20-40
Très élevée	>40

III.1.6 Azote total

L'azote se trouve dans toutes les fractions des matières organiques du sol, dans des composés très divers, libres ou liés aux minéraux et aux substances humiques, sa quantité dans le sol dépend de plusieurs facteurs : la végétation, le climat, le type de sol et les modalités d'utilisation du sols (Calvet, 2013). D'après la classification SSDS (1993) (tab. 7), le sol est considéré, comme étant très riche en azote ($7,56 \pm 0 \%$).

Tableau 7 : Grille d'évaluation des teneurs en azote dans le sol (SSDS, 1993).

Classes	N (%)
Faiblement riche en azote	<0,1%
Moyennement riche en azote	0,1-0,2%
Riche en azote	0,2-0,3%
Très riche en azote	>0,3%

III.1.7 Rapport C/N

La grille d'appréciation du LCA (2008) (tab. 8) permet de conclure à un rapport C/N (C/N=5,13) très faible signifiant que la décomposition de la matière organique est rapide.

Tableau 8 : Grille d'appréciation du rapport C/N (Laboratoire de Conseils et d'Analyses-LCA, 2008).

Classe	C/N	Evolution de la MO
Très faible	<6	Décomposition rapide de la MO
Faible	6-9	
Normal	9-11	Bonne décomposition de la MO
Légèrement élevé	11-12	Décomposition lente de la MO
Elevé	12-14	
Très élevé	>14	

III.1.8 Calcaire total

Il se présente sous forme de particules plus ou moins grossières. Du point de vue purement granulométrique, ces particules sont analogues aux autres grains de sable, mais du point de vue chimique elles sont différentes. En effet, les plus fines et les plus poreuses d'entre elles peuvent libérer du calcium, qui tend à neutraliser les acides et donc à rendre la terre plus basique (Pousset, 2011).

Selon les normes adoptées par le Groupe d'Étude des Problèmes de Pédologie Appliquée (GEPPA in Baize, 1988), avec une valeur de $\text{CaCO}_3 \text{ T} = 11,22 \pm 0,86 \%$, (tab. 9) le sol a une teneur en calcaire total modérée.

Tableau 9 : Grille de détermination des classes des teneurs en calcaire total du sol (Baize, 1988).

Classe	CaCO ₃ (%)
Non calcaire	≤1
Peu calcaire	1-5
Modérément calcaire	5-25
Fortement calcaire	25-50
Très fortement calcaire	50-80

III.1.9 Phosphore assimilable

Le phosphore assimilable n'est dosé que dans les sols des pays tempérés ou méditerranéens et des régions tropicales peu humides ou dans les sols alluviaux peu évolués (Aubert *et al.*, 1954). Selon les normes rapportées dans le tableau 10 (IAV, 2006), la teneur en phosphore assimilable ($\text{P}_2\text{O}_5 = 7,93 \pm 0,61 \text{ mg/g}$ du sol) du sol est très élevée.

Tableau 10 : Grille de détermination des classes du phosphore assimilable du sol (IAV, 2006).

Classe g/kg	P ₂ O ₅ (mg/g du sol)
Faible	<0,5
Correcte	0,5-2
Élevée	2-4
Très élevée	>4

Le rôle des propriétés du sol dans l'incidence de la biodisponibilité du Zn à partir des NPs ZnO est peu abordé (Priester *et al.*, 2012).

Dans le sol acide, les NPs ZnO ont provoqué une phytotoxicité dose-dépendante, Cette dernière a été atténuée dans le sol alcalin calcaire, le Zn soluble dans le sol acide était 200 fois plus élevé que dans le sol alcalin en corrélation avec la phytotoxicité. L'absorption de Zn biobisponible à partir des NPs ZnO a été réduite par la présence de Ca (Watson *et al.*, 2014).

L'utilisation de NPs ZnO comme engrais ou pesticide devrait être adaptée au sol traité pour éviter les effets phytotoxiques tout en conservant l'absorption bénéfique de Zn (Watson *et al.*, 2014).

L'adsorption et la précipitation des métaux lourds (Cd, Pb, Zn, Ni, Cu and Cr (III)) sous forme de carbonates métalliques sont deux des mécanismes qui ont contribué à l'élimination des métaux de leur solution (Aziz *et al.*, 2008).

III.2 Paramètres biologiques

III.2.1 Paramètres biométriques

III.2.1.1 Effet du Cd et des concentrations de nanoparticules ZnO sur le taux de germination des graines de colza

Les résultats illustrés par la figure 11, montrent que le taux de germination est maximal pour la concentration T₃ (74±16,88%) et le minimum est enregistré à la concentration T₁ (44,44±11,11%).

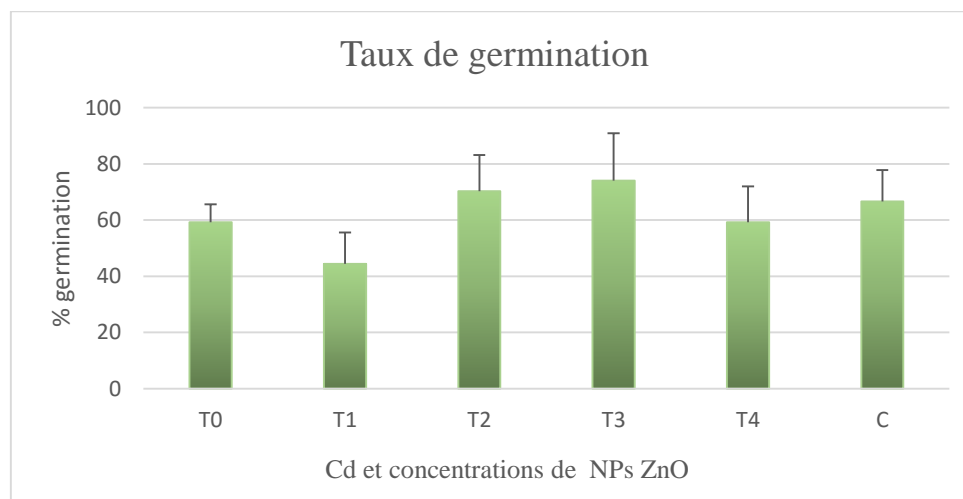


Figure 11 : Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur le taux de germination des graines de colza.

Cependant, les résultats du test de Kruskal-Wallis de l'effet des concentrations de Cd et des NPs ZnO sur le taux de germination des graines de colza ($\alpha = 0,05$, $p > 0,45$) a révélé une différence significative ($\alpha < p$) (tab. 11).

Tableau 11 : Test de Kruskal-Wallis de l'effet de Cd et des concentrations de ZnO sur le taux de germination des graines de colza.

K (Valeur observée)	17,000
K (Valeur critique)	27,587
DDL	17
p-value (bilatérale)	0,454
alpha	0,05

Les réponses germinatives ont été largement utilisées comme indicateurs de phytotoxicité dans les sols (Tiquia et Tam, 1998). L'effet de Cd et des NPs ZnO sur la germination semble être différent. Un effet stimulant la germination semble avoir lieu pour les concentrations de ZnO T₂ (Cd : 2 mg/kg ; NPs ZnO : 100 mg/kg) et T₃ (Cd : 2 mg/kg ; NPs ZnO : 150 mg/kg) et la concentration contrôle de cadmium C (Cd : 2 mg/kg).

Ilona *et al.* (2020), dans leurs travaux sur l'orge, concluent aussi à une augmentation significative de la germination des graines d'orge en présence de faibles concentrations (1, 2 et 4 mg/l) de NPs ZnO (31nm de taille). Xiang *et al.* (2015) ont observé que des concentrations de 1 à 80 mg/l de NPs ZnO affectaient, de manière insignifiante, la germination des graines du chou chinois. Dans le processus d'incubation des graines, une concentration de NPs ZnO de 2000mg/l pourrait inhiber la germination des graines de plantes du colza (Ali *et al.*, 2019). D'autre part, nos résultats sont en désaccord avec plusieurs études qui ont montré que le Cd pouvait inhiber la germination des graines et l'allongement des racines et diminuer les activités de certaines enzymes (Ali *et al.*, 2014a). L'influence des NPs ZnO sur la germination peut trouver des applications potentielles dans le développement de la résilience des cultures dans les terres agricoles chargées de Cd (Rizwan *et al.*, 2019).

III.2.1.2 Effet du Cd et des concentrations NPs ZnO sur l'élongation foliaire du colza

Les valeurs maximales de l'élongation foliaire (fig. 12) sont observées pour T₀ (10,57±1,29 cm) et le minimum pour la concentration C (7,57±0,20 cm).

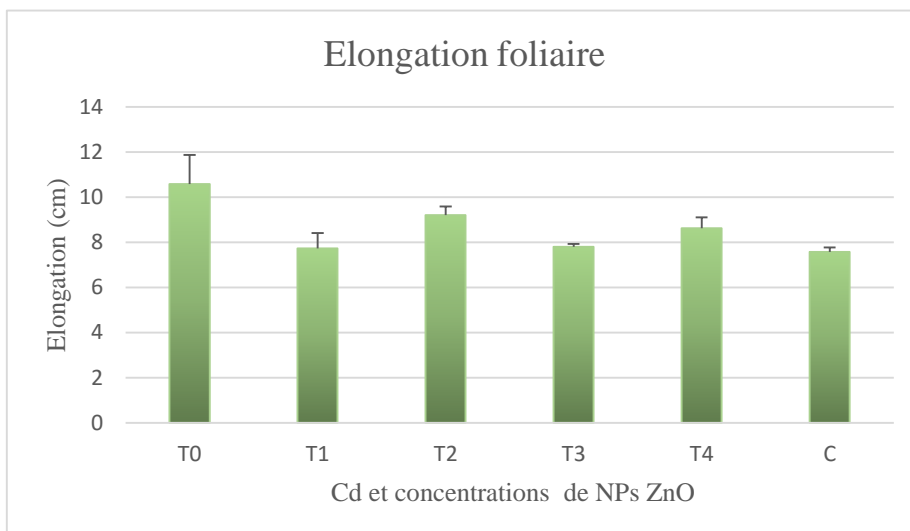


Figure 12 : Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur l’elongation foliaire du colza.

La variabilité de l’elongation foliaire du colza en fonction du Cd et des concentrations de NPs ZnO est confirmée par le test Kruskal-wallis ($\alpha = 0,05$, $p > 0,45$) qui a révélé un effet significatif ($\alpha < p$) (tab. 12).

Tableau 12 : Effet de Cd et des concentrations des NPs ZnO sur l’elongation foliaire des graines de colza.

K (Valeur observée)	17,000
K (Valeur critique)	27,587
DDL	17
p-value (bilatérale)	0,454
alpha	0,05

Les concentrations T₁ (Cd : 2 mg/kg ; NPs ZnO : 50 mg/kg), T₂ (Cd : 2 mg/kg ; NPs ZnO : 100 mg/kg), T₃ (Cd : 2 mg/kg ; NPs ZnO : 150 mg/kg) et T₄ (Cd : 2 mg/kg ; NPs ZnO : 1000 mg/kg) ont entraîné une diminution de l’elongation foliaire par rapport au témoin, alors que la concentration C du Cd seul a provoqué une diminution de cette dernière.

Nos résultats sont en accord avec ceux de Faizan *et al.* (2021) qui ont exploré l’efficacité de la pulvérisation foliaire de NPs ZnO (aux concentrations : 0, 50, 75, 100 mg/l). Les résultats ont montré que les NPs ZnO amélioraient la hauteur des plantes de maïs.

Li *et al.*, (n.d.) ont rapporté que l’amorçage des graines de colza avec des NPs ZnO n’avait aucun effet significatif sur la germination des graines, mais qu’il améliorait considérablement la croissance des semis et attributs physiologiques associés sous le stress du Cd. Étant donné

que les racicules s'étendant du tégument de la graine doivent d'abord être exposées au milieu d'essai, leur retard est plus marqué que celui des pousses (Sresty et Rao, 1999).

III.3 Paramètres physio-morphologiques

III.3.1 Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur le poids frais des feuilles

Le poids frais des feuilles du colza (fig. 13) atteint son maximum à la concentration T₃ (0,92±0,14 g), et la valeur minimale est constatée à la concentration (0,82±0,19 g).

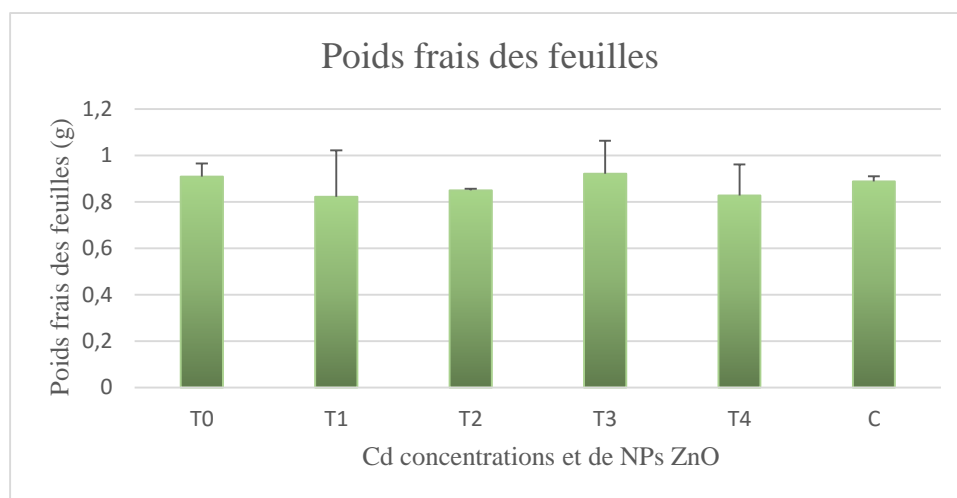


Figure 13 : Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur le poids frais des feuilles de colza.

La variabilité de l'effet de la concentration de Cd et des NPs ZnO sur le poids frais des feuilles du colza est vérifiée par le test de Kruskal-wallis ($\alpha > 0,05$, $p > 0,45$) qui a révélé une différence significative ($\alpha < p$) (tab. 13).

Tableau 13 : Effet de Cd et des concentrations des NPs ZnO sur le poids frais des feuilles de colza.

K (Valeur observée)	17,000
K (Valeur critique)	27,587
DDL	17
p-value (bilatérale)	0,454
alpha	0,05

L'effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur le poids frais des feuilles du colza est significatif. Le traitement 4 (Cd : 2 mg/kg ; NPs ZnO : 1000 mg/kg) réduit considérablement le PFF. L'effet du troisième traitement (Cd : 2 mg/kg ; NPs ZnO : 150 mg/kg) sur le poids frais des feuilles semble bénéfique au colza par rapport à la concentration contrôle C du Cd seul.

Faizan *et al.* (2021) ont noté que le Cd diminue la biomasse de manière significative chez les plants de riz. Cependant, la supplémentation en NPs ZnO (50 mg/l) aux plantes stressées par le Cd a considérablement amélioré la biomasse des plants de riz par rapport à celles traitées au Cd (0,8 mM) seul.

III.3.2 Effet du Cd et des concentrations de NPs ZnO sur le taux de chlorophylle

(a), (b) et totale (T)

Les teneurs de la chlorophylle (a), (b) et totale dans les feuilles de colza ayant subi une concentration de Cd et différentes concentrations en NPs ZnO sont illustrées par la figure 14.

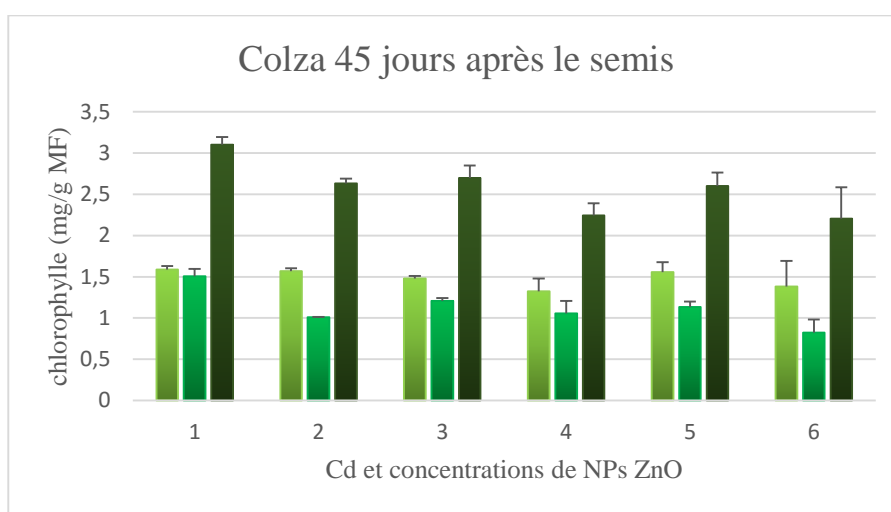


Figure 14 : Effet du Cd et des concentrations de nanoparticules ZnO sur la teneur en chlorophylle (a), (b) et totale des plantes de colza.

III.3.2.1 Chlorophylle (a)

La teneur maximale de la chlorophylle (a) est enregistrée à la concentration T₀ (1,58±0,15 mg/kg MF) et la minimale est relevée pour T₃ (1,32±0,04 mg/kg MF).

Le test de Kruskal-wallis ($\alpha < p$) révèle une différence significative (tab. 14).

Tableau 14 : Effet de Cd et des concentrations des NPs ZnO sur la teneur en chlorophylle (a), des plantes de colza.

K (Valeur observée)	17,000
K (Valeur critique)	27,587
DDL	17
p-value (bilatérale)	0,454
alpha	0,05

III.3.2.2 Chlorophylle (b)

La teneur maximale de la chlorophylle (b) est enregistrée à la concentration T₀ (1,50 ±0,08 mg/kg MF), alors que la minimale est celle de C (0,80 ±0,16 mg/kg MF).

Le test de Kruskal-wallis ($\alpha < p$) révèle une différence significative (tab. 15).

Tableau 15 : Effet de Cd et des concentrations des NPs ZnO sur la teneur en chlorophylle (b), des plantes de colza.

K (Valeur observée)	17,000
K (Valeur critique)	27,587
DDL	17
p-value (bilatérale)	0,454
alpha	0,05

III.3.2.3 Chlorophylle totale (T)

La teneur moyenne la plus élevée de chlorophylle (T) est enregistrée à la concentration T₀ (3,10±0,09 mg/kg de MF) et la minimale (2,20±2,38 mg/kg de MF) pour la concentration C du Cd seul. La variabilité des réponses de la chlorophylle totale (T), est vérifiée par le test de Kruskal-wallis ($\alpha < p$) qui dévoile une différence significative (tab. 16).

Tableau 16 : Effet de Cd et des concentrations des NPs ZnO s sur la teneur en chlorophylle totale des plantes de colza.

K (Valeur observée)	17,000
K (Valeur critique)	27,587
DDL	17
p-value (bilatérale)	0,454
alpha	0,05

L'exposition des semis de graines de colza à ce cocktail Cd et Nps ZnO a mis en évidence un effet toxique sur le taux de chlorophylle pour toutes les concentrations par rapport au témoin. Cependant la concentration C (Cd : 2 mg/l) a montré une diminution significative de la teneur en chlorophylle par analogie aux traitements supplémentés en NPs ZnO.

Selon plusieurs auteurs, les pigments photosynthétiques dans les feuilles des plantes sont considérés comme des biomarqueurs très importants du stress oxydant induit par les métaux lourds (Rizwan *et al.*, 2017). La réduction de la croissance des plantes induite par le Cd pourrait être associée à la perturbation de plusieurs mécanismes chez les plantes, tels que la biosynthèse de la chlorophylle (Ali *et al.*, 2013). Le Cd a causé des effets négatifs sur la croissance des

cultures en réduisant la synthèse de chlorophylle et l'altération ultra-structurale de la plante (Rehman *et al.*, 2018).

Priyanka *et al.* (2021) notent que l'intervention des NPs ZnO a régulé à la hausse le niveau des teneurs en chlorophylle a et b et en caroténoïdes dans les feuilles cultivées sous traitement au Cd et au Pb par rapport au témoin non traité. Les NPs ZnO ont amélioré la synthèse de la chlorophylle dans les feuilles en affectant les activités de la glutamyl-ARNt réductase et de la protoporphyrinogenoxydase (Siddiqui *et al.*, 2019). Le zinc est un composant essentiel de certaines enzymes végétales qui participent à la synthèse de la chlorophylle et des pigments auxiliaires ainsi qu'à la synthèse et à la transformation des glucides. Il a été rapporté que l'apport exogène de NPs ZnO augmente la teneur en chlorophylle en diminuant la toxicité du Cd pour la tomate. Habituellement, une forte teneur en chlorophylle entraîne une photosynthèse plus élevée et donc une meilleure performance des plantes (Zhang *et al.*, 2021). De plus, selon Rizwan *et al.* (2019), la stabilisation des pigments photosynthétiques et de la photosynthèse globale est liée à la diminution des dommages oxydatifs et de l'absorption de Cd après le traitement aux NPs ZnO.

III.4 Paramètres biochimiques (biomarqueurs de stress)

III.4.1 Effet du Cd et des concentrations NPs ZnO sur le taux des protéines du colza

La moyenne maximale du taux des protéines du colza est déterminée pour le témoin T₀ ($18,03 \pm 0,36$ g/l) et la minimale pour la concentration C ($14,91 \pm 0,01$ g/l) du Cd seul (fig. 15).

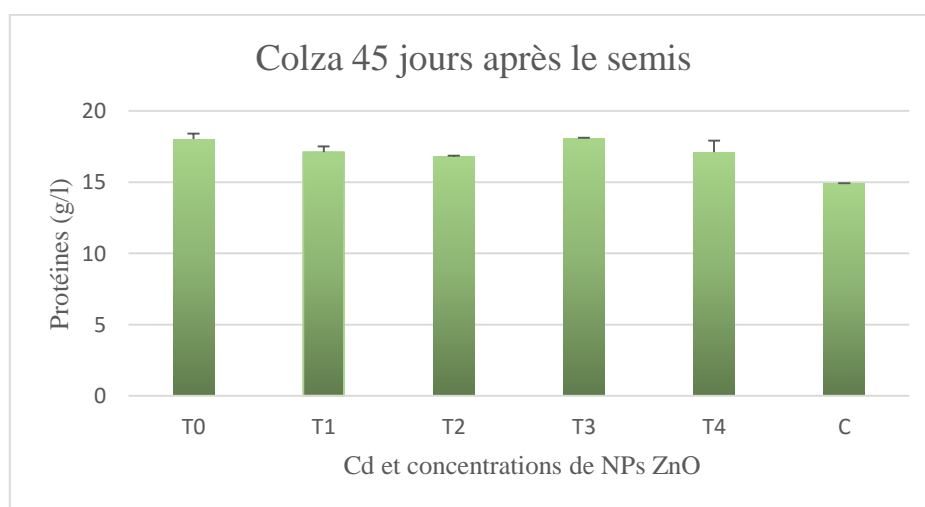


Figure 15 : Effet du Cd et des concentrations de nanoparticules ZnO sur le taux de protéines de colza.

Le test de Newman-Keuls ($\alpha < p$) a révélé une différence significative des réponses en taux de protéines (tab. 17).

Tableau 17 : Effet du Cd et des concentrations des NPs ZnO sur le taux des protéines des plantes de colza.

K (Valeur observée)	17,000
K (Valeur critique)	27,587
DDL	17
p-value (bilatérale)	0,454
alpha	0,05

Les résultats obtenus montrent une diminution significative de taux des protéines pour la concentration C par rapport au témoin et aux autres traitements : T₁, T₂, T₃, T₄ supplémentés en NPs ZnO. Une diminution significative du taux de protéines est constatée pour ces derniers, excepté le troisième traitement (Cd : 2 mg/kg ; NPs ZnO : 150 mg/kg) qui affiche une augmentation comparativement au témoin. La toxicité des métaux a pour effet le plus courant de produire un excès de ROS, ce qui cause des dommages oxydatifs aux protéines, aux lipides, à l'ADN et à d'autres molécules cellulaires chez les plantes (Noman *et al.*, 2018).

Zhang *et al.* (2021) ont obtenu des résultats similaires soit une diminution considérable de la teneur en protéines des plantes traitées au Cd. En présence d'un stress au Cd (0,8 mM), l'apport de NPs ZnO (50 mg/l) a amélioré la teneur en protéines des plants de riz par analogie à ceux traités au Cd seul. Suite au constat que le stress au Cd engendre une diminution de la teneur en protéines, il a été suggéré qu'une concentration toxique de Cd provoque un ralentissement de la synthèse des protéines et que l'activité accrue de la protéase détruit la structure et l'activité des protéines, entraînant à son tour une augmentation de l'étendue de la dégradation des protéines (Balestrasse *et al.*, 2003). La supplémentation en NPs ZnO de la culture du riz atténue la dégradation des protéines induite par le Cd. Le rôle du Zn dans les interconversions ioniques a été suggéré pour augmenter l'absorption de l'azote et induire une teneur en protéines plus élevée (Lawre et Raskar, 2014).

III.4.2 Effet du Cd et des concentrations NPs ZnO sur le taux de malondialdéhyde (MDA) du colza

Les taux de MDA (fig.16) montrent des valeurs maximales enregistrées pour le témoin T₀ (1,11±0,07 µmol/ml), alors que les minimales le sont pour T₄ (0,47±0,08 µmol/ml).

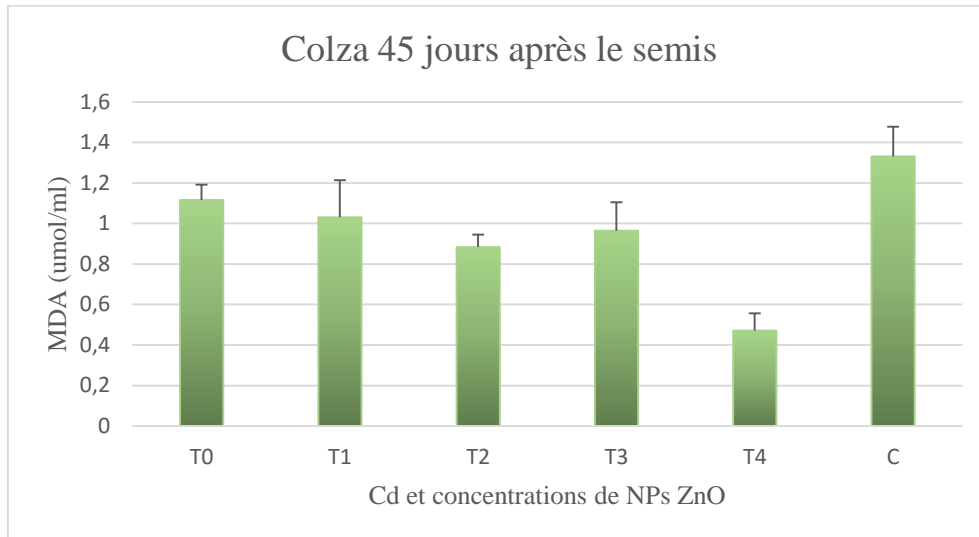


Figure 16 : Effet du Cd et des concentrations de nanoparticules ZnO sur le taux de MDA de colza.

Selon le test de Newman-Keuls ($\alpha < p$) une différence significative des taux de MDA en fonction des concentrations de NPs ZnO est révélée (tab. 18).

Tableau 18 : Effet de Cd et des concentrations des NPs ZnO sur les taux de (MDA) du colza.

K (Valeur observée)	17,000
K (Valeur critique)	27,587
DDL	17
p-value (bilatérale)	0,454
alpha	0,05

Lors d'un stress causé par l'introduction d'un polluant, lorsque les systèmes anti-oxydants deviennent inefficaces, les dommages cellulaires peuvent être estimés par le taux de MDA. De ce fait, cela constitue un bon biomarqueur pour la mesure du stress oxydant (Nicolas, 2005). Le taux maximal de MDA est enregistré pour le traitement T₁ (Cd : 2 mg/kg ; NPs ZnO : 50 mg/kg) alors que le taux minimal est relevé pour le traitement T₄ (Cd : 2 mg/kg ; NPs ZnO :

100 mg/kg). La concentration contrôle C (Cd seul) a entraîné un effet significatif par rapport au témoin et aux traitements supplémentés en NPs ZnO à différentes concentrations.

Li *et al.* (n. d.) ont constaté que sous le stress de Cd, l'amorçage des graines riz avec un traitement NPs ZnO a activé la résistance au stress, en réduisant l'accumulation de MDA dans la plante. La teneur en MDA renseigne directement sur le taux de peroxydation lipidique qui peut refléter de manière critique l'apparition d'un niveau de stress oxydatif dans les cellules. Le traitement aux métaux lourds Cd et Pb induit une concentration significativement plus élevée de la teneur en MDA (peroxydation lipidique) dans les semis de coton (Priyanka *et al.*, 2021). L'augmentation du niveau de MDA traduit des dommages aux membranes cellulaires (García-Gómez *et al.*, 2008). Faizan (2021) ajoute que les NPs ZnO ont également considérablement empêché les augmentations de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et de malondialdéhyde (MDA) déclenchées par le Cd.

Conclusion et Perspectives

Conclusion

Notre contribution a eu pour objectif la mise en évidence de l'impact du cadmium en présence de nanoparticules de NPs ZnO sur la croissance et le développement de l'une des espèces végétales proposées par les normes des essais écotoxicologiques, *Brassica napus L.* (colza) par le suivi des variations de paramètres biométriques, physio-morphologiques et biochimiques. Les essais de germination et croissance du colza ont été effectués en pots contenant du sol additionné d'une quantité fixe de cadmium et supplémentés en différentes concentrations de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO). Après une durée de 45 jours de développement, les résultats obtenus nous permettent d'aboutir à diverses observations. L'espèce étudiée a montré des sensibilités plus au moins différentes au Cd évaluées par des biomarqueurs biométriques, physio-morphologiques et biochimiques.

Les plantes de colza supplémentées en NPs ZnO sous la toxicité de Cd ont révélé des différences des taux de germination des graines du colza non significatives. Les NPs ZnO ont des effets positifs par rapport à la concentration contrôle (C : 2 mg/kg du sol) sur le poids frais des feuilles à 150 mg/kg et les teneurs en chlorophylle et en protéines. Les NPs ZnO ont considérablement empêché les augmentations des taux de MDA.

En résumé, l'amorçage des graines de colza avec des NPs ZnO n'a eu aucun effet évident sur la germination des graines, cependant il a eu un effet remarquable sur la croissance des semis, ce qui est attribué aux réponses physico-biochimiques associées (poids frais des feuilles et enzymes antioxydantes), et d'autres métabolites dans les plantules de colza sous stress de Cd.

De futures études approfondies sont encore nécessaire pour explorer les mécanismes exactes d'implication des NPs ZnO dans l'amélioration de la croissance des plantes dans des conditions environnementales toxiques. Dans l'ensemble, notre étude rapporte des effets positifs de l'amorçage des semences de NPs ZnO sur la croissance précoce du colza cultivés dans des conditions toxiques de Cd, ce qui peut aider à développer des stratégies réalisables pour la culture sur les terres agricoles contenant de fortes concentrations de métaux lourds.

Perspectives

Cette première approche nécessite un approfondissement de l'aspect expérimental afin de mieux cerner l'influence du cadmium en présence des NPs ZnO sur la germination et le développement du colza. Des perspectives d'étude s'imposent et nous proposons les investigations suivantes :

- ✓ caractériser les nanoparticules de ZnO : taille, forme, surface, agglomération, etc ;
- ✓ qualifier le Cd, le Zn et le ZnO dans le milieu et les différentes parties racinaires et aériennes de la plante (translocation et bioaccumulation) ;
- ✓ analyser les graines de colza en germination pour élucider les mécanismes moléculaires par lesquels les nanoparticules de ZnO peuvent médier le processus de germination dans les graines stressées par le Cd ;
- ✓ définir et cerner les concentrations des NPs ZnO induisant un effet bénéfique sur le colza stressé par le Cd ;
- ✓ prolonger la durée d'exposition aux NPs ZnO du colza stressé par le Cd;
- ✓ étendre l'étude à d'autres réponses biologiques et biomarqueurs ;
- ✓ étendre l'étude à d'autres ETM ;
- ✓ observer l'effet combiné de Cd et des NPs ZnO sous l'influence de divers paramètres environnementaux comme la température, la lumière, la nature du substrat, etc ;
- ✓ des recherches supplémentaires sont nécessaires pour valider ces résultats sous différents niveaux de pollution des sols, types de sols, espèces de cultures, ainsi que différentes conditions climatiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Abbas, T., Rizwan, M., Ali, S., Adrees, M., Zia-ur-Rehman, M., Qayyum, M. F., Ok, Y. S., and Murtaza, G., 2017.** Effect of biochar on alleviation of cadmium toxicity in wheat (*Triticum aestivum L.*) grown on Cd-contaminated saline soil. *Environ. Sc. and Poll. Research.* doi:10.1007/s11356-017-8987-4.
- **Ali, B., Gill, RA., Yang, S., Gill, M.B., Ali, S., Rafiq, M.T., Zhou, W., 2014.** Hydrogen sulfide alleviates cadmium-induced morpho-physiological and ultrastructural changes in *Brassica napus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 110 : 197-207.
- **Ali, S., Rizwan, M., Noreen, S., Anwar, S., Ali, B., Naveed, M., Abd_Allah, E. F. Alqarawi, A. A. and Ahmad, P., 2019.** Combined use of biochar and zinc oxide nanoparticle foliar spray improved the plant growth and decreased the cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa L.*) plant. *Environmental Science and Pollution Research.* doi:10.1007/s11356-019-04554-y
- **Akhter, M.F., Omelon, C.R., Gordon, R.A., Moser, D., and Macfie, S.M., 2014.** Localization and chemical speciation of cadmium in the roots of barley and lettuce. *Environmental and Experimental Botany.* 100 : 10-19.
- **Ali, B., Tao, Q., Zhou, Y., Gill, R. A., Ali, S., Rafiq, M. T., Xu, L., Zhou, W., 2013.** 5Aminolevulinic acid mitigates the cadmium-induced changes in *Brassica napus* as revealed by the biochemical and ultra-structural evaluation of roots. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 92 : 271-280.
- **Ali, D., Alarifi, S., Kumar, S., Ahamed, M., and Siddiqui, M.A., 2012.** Oxidative stress and genotoxic effect of zinc oxide nanoparticles in freshwater snail *Lymnaea luteola L.* *Aquatic Toxicology.* 124 (125): 83-90.
- **Ali, H., Khan, E., and Sajad, M.A., 2013.** Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. *Chemosphere.* 91 (7): 869-881.
- **Ali, S., Rizwan, M., Noreen, S., Anwar, S., Ali, B., Naveed, M., Abd_Allah, E. F., and Ahmad, P., 2019.** Combined use of biochar and zinc oxide nanoparticle foliar spray improved the plant growth and decreased the cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa L.*) plant. *Environmental Science and Pollution Research.* doi:10.1007/s11356-019-04554-y.
- **Andre, C.M., Larondelle, Y., and Evers, D., 2010.** Dietary antioxidants and oxidative stress from a human and plant perspective: a review. *Current Nutrition & Food Science.* 6 : 2-12.
- **Andujar, P., Bensefa-Colas, L., and Descatha, A., 2010.** Intoxication aiguë et chronique au cadmium. *La Revue de Médecine Interne.* 31 (2) : 107-115.
- **Gouvernement Canada., 1994.** Loi canadienne sur la protection de l'environnement : Le cadmium et ses composés, Ottawa, 106p.
- **Anonyme., 2009.** Physiologie végétale, TP : 03, catalase et peroxydase. Université de Montpellier. 10p.
- **Arachchige, I. U., and Brock, S. L., 2006.** Sol-Gel Assembly of CdSe Nanoparticles to Form Porous Aerogel Networks. *Journal of the American Chemical Society.* 128 (24) : 7964-7971.
- **Asgher, M., Khan, M. I. R., Anjum, N. A., and Khan, N. A., 2014.** Minimising toxicity of cadmium in plants-role of plant growth regulators. *Protoplasma.* 252 (2) : 399-413.
- **Ashley, J., T., F., 1996.** Adsorption of Cu (II) and Zn (II) by estuarine, riverine and terrestrial humic acids. *Chemosphere.* 2175-2187p.
- **Aubert, G., Ollat, C., Pinta, M., 1954.** Méthodes d'analyses utilisées actuellement aux laboratoires des sols de l'idert, In : Conférence Interafricaine des Sols. Léopoldville. 1267-1276p.
- **Aziz, H. A., Adlan, M. N., and Ariffin, K. S., 2008.** Heavy metals (Cd, Pb, Zn, Ni, Cu and Cr (III)) removal from water in Malaysia: Post treatment by high quality limestone. *Bioresource Technology.* 99(6) : 1578-1583. Doi : 10.1016/j.biortech.2007.04.007.
- **Bailleul, D., 2012.** Dispersion des graines de colza (*Brassica napus L.*) et origines des populations férales dans un agroécosystème, Thèse de Doctorat, Université Paris Sud, 204p.
- **Baize, D., 1988.** Guide des analyses courantes en pédologie. Institut National de La Recherche Agronomique. <https://www.quae.com/produit/1531/9782759228379/guide-des-analyses-en-pedologie>
- **Balestrasse, K.B., Benavides, M.P., Gallego, S.M., Tomaro, M.L., 2003.** Effect on cadmium stress on nitrogen metabolism in nodules and roots of soybean plants. *Functional Plant Biology.* 30 : 57-64.
- **Barber, S.A., and Silberbush, M., 1984.** Plante morphology and nutrient uptake, In : Roots, nutrient, water influx and plant growth. *Madison County Journal.* 65-87p.
- **Barcelo, J. and Poschenrieder, Ch., 1992.** Respuestas de las plantas a la contaminacion por metales pesados. file:///C:/Users/lenovo/Downloads/ToxicidadmetalesreviewSueloPlanta%20(2).pdf

- **Bartolf, M., Brennan, E. and Price, C. A., 1980.** Partial characterization of a cadmium binding protein from the roots of cadmium-treated tomato. *Plant Physiology*. 66 : 438-441.
- **Batsmanova, L. M., Gonchar L. M., Taran, N. Y., and Okanencko A. A., 2013.** Using a colloidal solution of metal nanoparticles as micronutrient fertilizer for cereals. *Proceedings of the International Conference Nanomaterials*. 2 (4) : 2.
- **Baycu, G., Gevrek-Kürüm, N., Moustaka, J., Csatári, I., Rognes, S. E., and Moustakas, M., 2017.** Cadmium-zinc accumulation and photosystem II responses of *Noccaea caerulea* to Cd and Zn exposure. *Environmental Science Pollution Research*. 24 : 2840-2850.
- **Benhamimed, H., Chaoui, F., 2016.** Effets de l'incorporation de grains alimentaires sur les qualités technologiques de la farine de blé destinée a la panification, Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaghaneme, 112p.
- **Bennouna, D., 2018.** Étude de l'impact de l'environnement et de la génétique sur la qualité nutritionnelle du colza par une approche métabolomique, Thèse de Doctorat, Université d'Aix-Marseille, 248 p.
- **Bernhardt, E.S., Colman, B.P., Hochella, M.F., Cardinale, B.j., Nisbet, R.M., Richardson, C.J., Yin, L., 2010.** An ecological perspective on nanomaterial impacts in the environment. *Journal of Environmental Quality*. 39 : 1-12.
- **Berthet, B., Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., and Metayer, C., 1984.** Étude expérimentale de la relation entre la forme physico-chimique du zinc et sa disponibilité à l'égard de végétaux cultivés. Application à l'utilisation agricole de boues de stations d'épuration. *Plant and Soil*. 82 (2) : 231-246.
- **Bhaduri, A. M., Fulekar, M. H., 2012.** Antioxidants enzyme responses of plants to heavy metal stress. *Environnement Science and Biotechnology*. 11 : 55-69.
- **Borm, P., Klaessig, F.C., Landry, T.D., Moudgil, B., Pauluhn, J., Thomas, K., Trottier, R., and Wood, S., 2006a.** Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part V: role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles. *Toxicological Sciences*. 90 (1) : 23-32.
- **Borm, P., Robbins, D., Haubold, S., Kuhlbusch, T., Fissan, H., Donaldson, K., Schins, R., Stone, V., Kreyling, W., Lademann, J., Krutmann, J., Warheit, D., and Oberdorster, E., 2006b.** The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Particle and Fibre Toxicology*. 14 : 3-11.
- **Bourrelrier, P., and Berthelin, J., 1998.** Contamination des sols par les éléments traces : les risques et leur gestion, Rapport de l'Académie des sciences Ed. Lavoisier, Paris. 438p.
- **Bourrelrier, PH., Berthelin, J., 1998.** Contamination des sols par les éléments traces : les risques et leur gestion, Paris, 438p.
- **Bradford, M. 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 (1-2) : 248-254.
- **Broadley, M. R., White, P. J., Hammond, J. P., Zelko, I., and Lux, A., 2007.** Zinc in plants. *New Phytologist*. 173 (4) : 677-702.
- **Cakmak, I., and Kutman, U. B., 2018.** Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. *European Journal of Soil Science* .69 : 172-180.
- **Calvet, R., 2013.** Le sol, Paris, 678.
- **Chaney, R. L., 2015.** How does contamination of rice soils with Cd and Zn cause high incidence of human Cd disease in subsistence rice farmers. *Current Pollution Reports*. 1 (1) : 13-22.
- **Chaney, R. L., 1993.** Zinc phytotoxicity, In : Zinc in soils and plants. *Springer*. 135-150p.
- **Chancy, R. L., and Harnick, S. B., 1978.** Accumulation and effects of cadmium of crops, In : Proceedings of 1st International Cadmium .*Conference and Metals Bulletin*. 125-140p.
- **Chancy, R. L., White, M. C., and Simon, P. W., 1975.** Plant uptake of heavy metals from sewage sludge applied to land, In : Conférence Municipale. Sludge Manage. 167-178p.
- **Chandesris, A., Canal, J., Bougon, N., and Coquery, M., 2013.** Détermination du fond géochimique pour les métaux dissous dans les eaux continentales. Rapport final. Paris, 231p.
- **Charman, P. E. V., Roper, M. M., 2007.** Soil organic matter. In : Soils : their properties and management. 3rd edition. Canberra, 276-285p.
- **Chemingui, H., Smiri, M., Missaoui, T., and Hafiane, A., 2019.** Zinc Oxide Nanoparticles Induced Oxidative Stress and Changes in the Photosynthetic Apparatus in Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. doi:10.1007/s00128-019-02590-5.
- **Choppala, G., Saifullah, Bolan, N., Bibi, S., Iqbal, M., Rengel, Z., Kunhikrishnan, A., Ashwath, N., and Ok, Y. S., 2014.** Cellular mechanisms in higher plants governing tolerance to cadmium toxicity. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 33 (5) : 374-391.
- **Clemens, S., Aarts, M.G., Thomine, M.S., and Verbruggen, N., 2013.** Plant science: the key to preventing slow cadmium poisoning. *Trends in Plant Science*. 18 : 92-99.
- **Clemens, S., Palmgren, M. G., and Krämer, U., 2002.** A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Science*. 7 (7) : 309-315.

- **Coïc Y., and Coppenet M., 1989.** Les oligo-éléments en agriculture et élevage, INRA. Paris, 113p.
- **Curie, C., Cassin, G., Couch, D., Divol, F., Higuchi, K., Le Jean, M., and Mari, S., 2009.** Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. *Annals of Botany*. 103 (1) : 1-11.
- **Cutler, J. M., and Rains, D. W., 1974.** Characterization of cadmium uptake by plant tissue. *Plant Physiology*. 54 : 67-71.
- **Couronne, M, P., 2015.** Chambre d'agriculture de la Drôme. https://agriressources.fr/fileadmin/user_upload/Auvergne-Rhone-Alpes/177_Eve-agriressources/fertisols/RESSOURCES/Etats_des_lieux-connaissances/Fiche_CEC.pdf
- **Dabin, P., Marafante, E., Mousny, J. M., and Myttenaere, C., 1978.** Absorption, distribution and binding of cadmium and zinc in irrigated rice plants. *Plant and Soil*. 50 : 329-341.
- **DalCorso, G., Farinati, S., and Furini, A., 2010.** Regulatory networks of cadmium stress in plants. *Plant Signaling & Behavior*. 5 (6) : 663-667.
- **Dambri, K. Karrad, B., 2021.** L'entomofaune inféodée a la plante du colza (*Brassica napus L.*) dans la région de Constantine Algérie, Mémoire de Master, Université Mentouri Constantine, 60p.
- **Das, P., Samantaray, S., and Rout, G. R., 1997.** Studies on cadmium toxicity in plants: A review. *Environmental Pollution*. 98 (1) : 29-36.
- **Dimkpa, C. O., White, J. C., Elmer, W. H., and Gardea-Torresdey, J., 2017.** Nanoparticle and ionic Zn promote nutrient loading of sorghum grain under low NPK fertilization. *Journal of Agricultural and Food Chemical*. 65 : 8552- 8559.
- **El Zahaby, M., 1998.** Contribution à la définition d'une norme des sites pollués. Elaboration d'une méthodologie pour l'évaluation de la contamination d'un sol par éléments traces, Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, 210p.
- **Emami-Karvani, Z., and Chehrazi P., 2011.** Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on gram-positive and gram-negative bacteria. *Afr. Journal of Microbiology Research*. 5 (12) : 1368-1373.
- **Erickson, R.O., 1986.** Symplastic growth and symplasmic transport. *Plant Physiology*. 82 (4): 1153-1153.
- **Faizan, M., Bhat, J. A., Hessini, K., Yu, F., & Ahmad, P., 2021.** Zinc oxide nanoparticles alleviates the adverse effects of cadmium stress on *Oryza sativa* via modulation of the photosynthesis and antioxidant defense system. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 220 : 112401.
- **Feix, I., and Wiart, J., 1998.,** Connaissance et maîtrise des aspects sanitaires de l'épandage des boues d'épuration des collectivités locales. France : Ministère de l'agriculture et de la pêche, 74p.
- **Finney, L.A., and O'Halloran, T.V., 2003.** Transition metal speciation in the cell: insights from the chemistry of metal ion receptors. *Science and research*. 300 : 931-936.
- **Fujita, M., and Kawanishi, T., 1986.** Purification and characterization of Cd-binding complex from the root tissue of water hyacinth cultivated in a Cd²⁺: containing medium. *Plant Cell Physiology*. 27 (7) : 1317-1325.
- **Gagné, F., Turcotte, P., Auclair, J., and Gagnon, C., 2013.** Sublethal Effects of Silver Nanoparticles and Dissolved Silver in Freshwater Mussels. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*. 158 : 22-28.
- **García-Gómez, C., Obrador, A., González, D., Babín, M., and Fernández, M. D., 2018.** Comparative study of the phytotoxicity of ZnO nanoparticles and Zn accumulation in nine crops grown in a calcareous soil and an acidic soil. *Science of The Total Environment*. 644 : 770-780.
- **Garcia-Sanchez, S., Bernales, I., and Cristobal, S., 2015.** Early response to nanoparticles in the Arabidopsis transcriptome compromises plant defence and root hair development through salicylic acid signalling. *BMC Genom*. 16 (1) : 341.
- **Garg, N., and Manchanda, G., 2009.** ROS generation in plants: Boon or bane? *Plant Biosystems*. 143 : 81-96.
- **Garty, J., Karary, Y., and Harel, J., 1992.** Effect of low pH, heavy metals and anions on chlorophyll degradation in the lichen *Ramalina duriaei*. *Experimental Botany*. 32 : 229-241p.
- **Gazaout, S., and Djebabra, S., 2018.** Étude photocatalytique des poudres nanométriques de TiO₂ pures et dopées par Ag préparées par sol-gel, Mémoire de Master, Université Larbi ben Mhidi Oum El Bouaghi, 30p.
- **Gérard, É., 2000.** Caractérisation du cadmium phytodisponible des sols par méthodes isotopiques, Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, 153p.
- **Ghosh, M., Ghosh, I., Godderis, L., Hoet, P., and Mukherjee, A., 2019.** Génotoxicité des nanoparticules modifiées dans les plantes supérieures. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 842 : 132-14.

- **Ghosh, R., and Roy, S., 2019.** Cadmium toxicity in plants, *In: Cadmium tolerance in plants. Elsevier Inc.* 223-246p.
- **Gill, S.S., Khan, N.A., and Tuteja, N., 2012.** Cadmium at high dose perturbs growth, photosynthesis and nitrogen metabolism while at low dose it up regulates sulfur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium sativum L.*). *Plant Science.* 182 : 112-120.
- **Goldbold, D. L., and Huttermann, A., 1985.** Effect of zinc, cadmium and mercury on root elongation of *P. abies* (Karst.) seedlings and the significance of these metals to forest die-back. *Environmental Pollution.* 38 : 375-381.
- **Gokavi, S., Malleshi, N.G., and Guo, M., 2004.** Chemical composition of garden cress (*Lepidium sativum*) seeds and its fractions and use of bran as a functional ingredient. *Plant Foods Human Nutrition.* 59 : 105-111.
- **Gonçalo, V., Mehennaoui, K., Cambier, S., Libralato, G., Jomini, S., Domingos, R. F., 2016.** Manufactured nanoparticles in the aquatic environment biochemical responses on freshwater organisms : A critical overview. *Aquatic Toxicology.* 170 : 162- 174.
- **Gupta U.C., and Gupta S.C., 1998.** Trace element toxicity relationships to crop production and livestock and human health: implications for management. *Journal Communications in Soil Science and Plant.* 29 : 1491-1522.
- **Haghiri, F., 1973.** Cadmium uptake by plants. *Journal of environmental Quality.* 2 : 93-96.
- **Haghiri, F., 1974.** Plant uptake of cadmium as influenced by cation exchange capacity, organic matter, zinc and soil temperature. *Journal of Environmental Quality.* 3 : 180-183.
- **Hazelton, P., and Murphy, B., 2007.** Interpreting soil test result: what do all the numbers mean? CSIRO Publishing, Canberra, 152p.
- **Hem, J.D., 1972.** Chemistry and occurrence of cadmium and zinc in surface water and ground water. *Water Resources Research.* 8 : 661-679.
- **Hinesly, T. D., Redberg, K. E., Pietz, R. I., and Ziegler, E. L., 1984.** Cadmium and zinc uptake by corn (*Zea mays L.*) with repeated applications of sewage sludge. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 32 : 155-163.
- **Hodson, M.E., 2004.** Heavy metals-geochemical bogey men? *Environmental Pollution.* 129 (3) : 341-343.
- **Hong, F., Zhou, J., Liu, C., Yang, F., Wu, C., Zheng, L., and Yang, P., 2005.** Effect of nano-TiO₂ on photochemical reaction of chloroplasts of spinach. *Biological Trace Elements. Res.* 105, 269–279.
- **Hurlbut, Jr. C. S., and Klein, C., 1982.** Manual de Mineralogía de Dana. Editorial Reverté, Madrid, 564 p.
- **Hussain, A., Ali, S., Rizwan, M., Rehman, M. Z., Javed, M. R., Imran, M., Chatha, S. A., Nazir, R., 2018.** Zinc oxide nanoparticles alter the wheat physiological response and reduce the cadmium uptake by plants. *Environmental Pollution.* 242 : 1518-1526.
- **Institut Agronomique et vétérinaire Hassane II (IAV), 2006.** Rabat. 34p. <https://www.vulgarisation.net/>
- **Ismael, M.A., Elyamine, A.M., Moussa, M.G., Cai, M., Zhao, X., and Hu, C., 2018.** Cadmium in plants: uptake, toxicity, and its interactions with selenium fertilizers. *Metallomics.* Doi :10.1039/c8mt00247a.
- **Jan, S., and Parray, J. A., 2016.** Heavy Metal Uptake in Plants. *Approaches to Heavy Metal Tolerance in Plants.* 1-18.
- **Kabata-Pendias A., and Pendias H., 1992.** Trace elements in soils and plants, New York, 209p.
- **Kaya, H., Aydin, F., Gürkan, M., Yilmaz, S., Ates, M., Demir, V., Arslan, Z., 2015.** Effects of zinc oxide nanoparticles on bioaccumulation and oxidative stress in different organs of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 40 (3): 936–947.
- **Keller, A.A., McFerran, S., Lazareva, A., and Suh, S., 2013.** Global lifecycle releases of engineered nanomaterials. *Journal Nanoparticle Research.* 15 : 1692-1708.
- **Koeppel, D. E., 1977.** The uptake, distribution, and effect of cadmium and lead in plants. *Science of the total Environment.* 7 (3) : 197-206.
- **Kubier, A., Wilkin, R. T., and Pichler, T., 2019.** Cadmium in soils and groundwater: A review. *Applied Geochemistry.* 104-388.
- **Kuriakose, S. V., and Prasad, M. N. V., 2008.** Cadmium stress affects seed germination and seedling growth in *Sorghum bicolor* (L.) Moench by changing the activities of hydrolyzing enzymes. *Plant Growth Regulation.* 54 (2) : 143-156.
- **Lanone, S., and Boczkowski, J., 2010.** Les sources de nanoparticules. *Elsevier Masson.* 50 : 211-213.
- **Le Coz, C., Tassin, B., and Thévenot, D., 1996.** Transfert des polluants dans les hydrosystèmes : presse de l'école nationale des ponts et chaussées. Paris, 140p.

- **Lawre, S., Raskar, S., 2014.** Influence of zinc oxide nanoparticles on growth, flowering and seed productivity in onion. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3 (7) : 874-881.
- **Lee, C. W., Mahendra, S., Zodrow, K., Li, D., Tsai, Y. C., Braam, J. and Alvarez, P. J. J., 2010.** Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana*. *Environmental Toxicology Chemistry*. 29 : 669-675.
- **Leita, L., Baca Garcia, M.T., and Maggioni, A., 1992.** Cadmium uptake by *Pisum sativum* : accumulation and defense mechanism. *Agrochimica*. 36 : (3) 253-259.
- **Li, Y.H., Burkhardt, L. and Teraoka, H., 1984.** Desorption and coagulation of trace elements during estuarine mixing. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 48 (10) : 1879-1884.
- **Li, Y., Liang, L., Li W., Ashraf, U., Ma, L., Tang, X., Pan, S., Tian, H., Mo, Z., n. d.** ZnO Nanoparticles-based seed Priming Modulates Early Growth and Enhances Physio-biochemical and Metabolic Profiles of Fragrant Rice Against Cadmium Toxicity. <https://www.researchsquare.com/article/rs-113495/v1>
- **Lin, D. and Xing B., 2007.** Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*. 150 : 243-250.
- **Lipovsky, A., Tzitrinovich, Z., Friedmann, H., Applerot, G., Gedanken, A., and Lubart, R., 2009.** EPR study of visible light-induced ROS generation by nanoparticles of ZnO. *The Journal of Physical Chemistry C*. 113 (36) : 15997-16001.
- **Loué A., 1993.** Oligoéléments en agriculture. Paris, 577 p.
- **López-Moreno, M. L., de La Rosa, G., Hernández-Viezcas, J. A., Castillo-Michel, H., Botez, C. E., Peralta-Videa, J. R., and Gardea-Torresdey, J. L., 2010.** Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO₂ nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants. *Environmental Science & Technology*. 44 (19) : 7315-7320.
- **Lum, R.R., 1987.** Cadmium in freshwaters: the Great Lakes and St. Lawrence River, *In* : Cadmium in the Aquatic Environment. Wiley. 35-50p.
- **Lymburner, D., 1974.** Environmental contaminants inventory study No. 2. The production use and distribution of cadmium in Canada. Report series No. 39, Centre canadien des eaux intérieures, direction des eaux intérieures, Ottawa, 71p.
- **Ma, H., Kabengi, N.J., Bertsch, P.M., Unrine, J.M., Glenn, T.C., and Williams, P.L., 2011.** Comparative phototoxicity of nanoparticulate and bulk ZnO to a free-living nematode *Caenorhabditis elegans*: the importance of illumination mode and primary particle size. *Environmental Pollution*. 159 (6) : 1473-1480.
- **Ma, H., Williams, P. L., and Diamond, S. A., 2013.** Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles. *Environmental Pollution*. 172 : 76-85.
- **Mahdavi, S., Jalali, M., and Afkhami, A., 2012.** Removal of heavy metals from aqueous solutions using Fe₃O₄, ZnO, and CuO nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*. 14 : 1-18.
- **Maksymiec, W., 2007.** Signaling responses in plants to heavy metal stress. *Acta Physiologiae Plantarum*. 29 (3) : 177-187.
- **Marschner, H., 2011.** Marschner's mineral nutrition of higher plants. États-Unis d'Amérique, 651p.
- **Martin-Garin, A., 2000.** Application à la migration du Cadmium dans un milieu saturé riche en calcite, Thèse de Doctorat, Université Grenoble I, 221p.
- **Martin-Garin, A., and Simon, O., 2004,** Fiche radionucléide, Cadmium 109 et son environnement. Direction de l'environnement et de l'intervention – Service d'étude du comportement des radionucléides dans les écosystèmes, IRSN. 14p. https://www.irsn.fr/FR/Larecherche/publications-documentation/fiches-radionucleides/Documents/ environnement/Cadmium_Cd109_v1.pdf
- **McLaughlin, M. J., and Singh, B. R., 1999.** Cadmium in Soils and Plants. *Springer*. 1-9.
- **McLaughlin, M.J., Williams, C.M.J., McKay, A., Kirkham, R., Gunton, J., Jackson K.J.,**
- **Miao, A.J., Zhang, X.Y., Luo, Z., Chen, C.S., Chin, W.C., Santschi, P.H., and Quigg, A., 2010.** Zinc oxide engineered nanoparticles: dissolution and toxicity to marine phytoplankton. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 29 (12) : 2814-2822.
- **Miller, J. E., Hasset, J. J. and Koeppel, D. E., 1976.** Uptake of cadmium by soybeans as influenced by soil cation exchange capacity, pH and available phosphorus. *Journal of Environmental Quality*. 5 : 157-160.
- **Miyadate, H., Adachi, S., Hiraizumi, A., Tezuka, K., Nakazawa, N., Kawamoto, T. Katou, K., Kodama, I., Sakurai, K., Takahashi, H., Satoh-Nagasawa, N., Watanabe, A., Fujimura, T., and Akagi, H., 2010.** *OsHMA3*, a *PIB*-type of *ATPase* affects root-to-shoot cadmium translocation in rice by mediating efflux into vacuoles. *New Phytologist*. 189(1) : 190-199.

- **Nicolas, P., 2005.** Effets biologiques d'une exposition par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sur une espèce bioindicatrice (*Mya arynaria*), Thèse de Doctorat, Université du Québec. 83p.
- **Morel, M., Crouzet, J., Gravot, A., Auroy, P., Leonhardt, N., Vavasseur, A., and Richaud, P., 2009.** AtHMA3 a PIB-ATPase allowing Cd/Zn/Co/Pb vacuolar storage in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 149 (2) : 894-904.
- **Mudunkotuwa, I.A., Rupasinghe, T., Wu, C.-M., and Grassian, V.H., 2012.** Dissolution of ZnO nanoparticles at circumneutral pH: a study of size effects in the presence and absence of citric acid. *Langmuir*. 28 (1): 396-403.
- **Mullins, G.L., and Sommers, L.E., 1986.** Characterization of cadmium and zinc in four soils treated with sewage sludge. *Journal of Environmental Quality publishes original research*. 15 : (4)382-387.
- **Musy, A., and M. Soutter, M., 1991.** Physique du sol. Collection G'erer l'Environnement, Suisse, 348p.
- **Nabloussi, A., 2015.** Amélioration Génétique du colza : Enjeux et réalisation pour un développement durable de la filière, Meknes, 105p.
- **Noman, A., Ali, Q., Maqsood, J., Iqbal, N., Javed, M.T., Rasool, N., Naseem, J., 2018.** Deciphering physio-biochemical, yield, and nutritional quality attributes of water- stressed radish (*Raphanus sativus L.*) plants grown from Zn-Lys primed seeds. *Chemosphere*. 195 : 175-189.
- **Oberdorster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., 2005.** Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials : elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol*. 2 (8) : 1-35.
- **OFEFP., 1996.** Sols pollués-métaux lourds et plantes bioindicatrices. Documents Environnement n° 58, Sol, Genève.
- **Parent, C., Capelli, N., and Dat, J., 2008.** Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes Reactive oxygen species, stress and cell death in plants. *Comptes Rendus Biologies*. 331 (4) :255-261.
- **Peer, W.A., Baxter, I.R., Richards, E.L., Freeman, J.L., and Murphy, A.S., 2005.** Phytoremediation and hyperaccumulator plants, *In : Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification*. Springer. 299-340p.
- **Peng, Y.H., Tsai Y.C., Hsiung, C.E., Lin, Y.H., Shih, Y., 2017.** Influence of water chemistry on the environmental behaviors of commercial ZnO nanoparticles in various water and wastewater samples. *Journal of Hazardous Materials*. 322 : 348-356.
- **Perrono, P., 1999.** Les micropolluants métalliques et les sols amendés par des boues résiduaires urbaines, Mémoire DUESS, Université Picardie, Amiens. <https://www.upicardie.fr/beauchamp/duer/perrono/perrono.htm>
- **Pétard, J. 1993.** Les méthodes d'analyse. Tome 1. Analyses de sols Nouméa : ORSTOM. *Notes Tech : Lab. commun Anal*. 5. 192 p.
- **Prasad, T. N. V. K. V., Sudhakar, P., and Sreenivasulu, Y., 2012.** Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*. 35 (6): 905-927.
- **Priester, J. H., Ge, Y., Mielke, R. E., Horst, A. M., Moritz, S. C., Espinosa, K., Gelb, J., Walker, S. L., Nisbet, R. M., An, Y. J., Schimel, J.P., Palmer, R.G., Hernandez-Viezcas, J.A., Zhao, L., Gardea-Torresdey, J. L., and Holden, P.A., 2012.** Soybean susceptibility to manufactured nanomaterials with evidence for food quality and soil fertility interruption. *Proceeding of the National Academy Sciences of United States of America*. 109 : E2451-E2456.
- **Priyanka, N., Geetha, N., Manish, T., Sahi, S. V., and Ventakachalam., 2021.** Zinc oxide nanocatalyst mediates cadmium and lead toxicity tolerance mechanism by differential regulation of photosynthetic machinery and antioxidant enzymes level in cotton seedlings. *Toxicology Reports*. 8 : 295-302.
- **Pousset J., 2011.** Engrais verts et fertilité des sols. 3^{ème} édition. Paris, 30-190 p.
- **Pullagurala, V. L., Adisa, I. O., Rawat, S., Kim, B., Barrios, A.C., Medina-Velo, I. A., Hernandez-Viezcas, J. A., Peralta-Video, J. R., Gardea-Torresdey, J. L., 2018.** Finding the conditions for the beneficial use of ZnO nanoparticles towards plants-a review. *Environmental Pollution*. 241:11751181.
- **Racine, R., and Harrist, W. E., 1975.** A Photometric Study of NGC 2419. *The American Astronomical Society*. 196 : 413-432.
- **Raikova O. P., Panichkin L. A., and Raikova N. N., 2006.** Studies on the effect of ultrafine metal powders produced by different methods on plant growth and development. *Nanotechnologies and information technologies in the 21st century*. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/723/1/011001/meta>.
- **Ravers, O., 1984.** Cadmium in freshwater ecosystems. *Experientia*. 40 : 1-14.
- **Reed, R.B., Ladner, D.A., Higgins, C.P., Westerhoff, P., and Ranville, J.F., 2012.** Solubility of nano-zinc oxide in environmentally and biologically important matrices. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 31 (1) : 93-99.

- **Rehman, M. Z., Rizwan, M., Ali, S., Naeem, A., Yousaf, B., Lui, G., Azhar, M., 2018.** A field study investigating the potential use of phosphorus combined with organic amendments on cadmium accumulation by wheat and subsequent rice. *Arabian Journal of Geosciences*. 11:1-10.
- **Richardson, G.M., Garrett, R., Mitchell, I., Mah-Poulson, M., and Hackbarth, T., 2001.** Critical review on natural global and regional emissions of six trace metals to the atmosphere. Ottawa, 52p.
- **Rizwan, M., Ali, S., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., Hussain, A., Rehman, M. Z., and Waris, A. A., 2019a.** Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant grow than reduced the oxidative in wheat. *Chemosphere*.214:269-277.
- **Rizwan, M., Ali, S., Adrees, M., Ibrahim, M., Tsang, D.C., Zia-ur-Rehman, M., Zahir, Z.A., Rinklebe, J., Tack, F.M., and Ok, Y.S., 2017.** A critical review on effects, tolerance mechanisms and management of cadmium in vegetables. *Chemosphere*. 182 : 90-105.
- **Rizwan, M., Ali, S., Zia ur Rehman, M., Adrees, M., Arshad, M., Qayyum, M. F. Ali, L., Hussain, A., Chatha, S. A. S., Imran, M., 2019.** Alleviation of cadmium accumulation in maize (*Zea mays L.*) by foliar spray of zinc oxide nanoparticles and biochar to contaminated soil. *Environmental Pollution*. doi:10.1016/j.envpol.2019.02.031.
- **Rizwan, M., Ali, S., Hussain, A., Ali, Q., Shakoor, M.B., Rehman, M. Z., Farid, M., and Asma, M., 2017.** Effect of zinc-lysine on growth, yield and cadmium uptake in wheat (*Triticum aestivum L.*) and health risk assessment. *Chemosphere*. 187 : 35-42.
- **Rizwan, M., Ali, S., Abbas, T., Rehman, M.Z., Hannan, F., Keller, C., Al-Wabel, M.I., and Ok, Y.S., 2016.** Cadmium minimization in wheat: a critical review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 130 : 43-53.
- **Rizwan, M., Ali, S., Adrees, M., Rizvi, H., Zia-Ur-Rehman, M., Hannan, F., Qayyum, M. F., Hafeez, F., and Ok, Y. S., 2016.** Cadmium stress in rice: Toxic effects, tolerance mechanisms, and management: A critical review. *Environmental Science and Pollution Research International*. 23 (18) : 17859-17879.
- **Rizwan, M., Ali, S., Qayyum, M.F., Ok, Y. S., Adrees, M., Ibrahim, M., Rehman, M.Z., Farid, M., and Abbas, F., 2017b.** Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: a critical review. *Journal Hazard Mater*. 322 : 2-16.
- **Rizwan, M., Ali, S., Rehman, M. Z., and Maqbool, A., 2019.** A critical review on the effects of zinc at toxic levels of cadmium in plants. *Environmental Science Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04174-6>
- **Rosas, I., Carbajal, M. E., Gomez-Arroyo, S., Belmont, R. and Villalagos-Pietrini, R., 1984.** Cytogenetic effects on cadmium accumulation on water hyacinth (*Eichornia cras-sipes*). *Environmental Research*. 33 : 386-395.
- **Rout, G.R., Das, P., 2009.** Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: I. Zinc, In : Sustainable Agriculture. Springer. 873-884p.
- **Sadeghzadeh, B., 2013.** A review of zinc nutrition and plant breeding. *Journal Soil Science Plant Nutrition*. (ahead). 0–0.
- **Salt, D.E., Prince, R.C., Pickering, I.J., and Raskin, I., 1995.** Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in indian mustard. *Plant Physiology*. 109:1427-1433.
- **Sameni, A.M., Mafloun, M., and Bassiri, A., 1987.** Responses of tomato and sweet corn to different cadmium levels in calcareous 50 ils. *Journal of Horticultural Sciences*. 62 : 227-232.
- **Sapkota, A., Anceno, A.J., Baruah, S., Shipin, O.V., and Dutta, J., 2011.** Zinc oxide nanorod mediated visible light photoinactivation of model microbes in water. *Nanotechnology*. 22 (21) : 5703-5707.
- Sarkar, B., 2002. Heavy metals in the environment, États-Unis d'Amérique, 712p.
- **Seth, C.S., Misra, V., Chauhan, L.K.S., and Singh, R.R., 2008.** Genotoxicity of cadmium on root meristem cells of *Allium cepa*: cytogenetic and Comet assay approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 71 : 711-716.
- **Siddiqui, Z.A., Parveen, A., Ahmad, L., Hashem, A., 2019.** Effects of grapheneoxide and zinc oxide nanoparticles on growth, chlorophyll, carotenoids, proline contents and diseases of carrot. *Scientia Horticulturae*. 249 : 374-382.
- **Schwab, F., Zhai, G., Kern, M., Turner, A., Schnoor, J.L., and Wiesner, M.R., 2015.** Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants. *Critical review Nanotox*. 10 : 257-278.
- **Schneider, A., Flénet, F., Dumans, P., Bonnin, E., De Chezelles, E., Jeuffroy, M.-H., Hayer, F., Nemecek, T., Carrouée, B., 2010.** Diversifier les rotations céréalières notamment avec du pois et du colza -Données récentes d'expérimentations et d'études. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. 17 (5) : 301-311.
- **Selivanov, V. N. and Zorin, E. V., 2001.** Sustained Action of ultrafine metal powders on seeds of grain crops. *Perspekt. Materialy*. 4 : 66-69.

- **Seregin, I. V., and Kozhevnikova, A. D., 2004.** Strontium Transport, Distribution, and Toxic Effects on Maize Seedling Growth. *Russian Journal of Plant Physiology*. 51 (2) : 215-221.
- **Sewelam N., Kazan K., and Schenk P.M. 2016.** Global plant stress signaling: reactive oxygen species at the cross-road. *Frontiers in Plant Science*. 7: 187.
- **Shahid, M., Javed, M. T., Mushtaq, A., Akram, M. S., Mahmood, F., Ahmed, T., Noman, M., and Azeem, M., 2019.** Microbe-mediated mitigation of cadmium toxicity in plants, *In : Cadmium toxicity and tolerance in plants. Elsevier Inc.* 427-449p.
- **Shanmugaraj, B. M., Malla, A., and Ramalingam, S., 2019.** Cadmium stress and toxicity in plants: An overview. *In : Cadmium toxicity and tolerance in plants. Elsevier Inc.* 1-17p.
- **Sharma, A., Mukherjee, A. and Talukder, G., 1985.** Modification of cadmium toxicity in biological systems by other metals. *Current Science*. 54 : 539-549.
- **Sharma, V. K., Sayes, C. M., Guo, B., Pillai, S., Parsons, J. G., Wang, C., Yan, B., Ma, X., 2019.** Interactions entre les nanoparticules d'argent et d'autres nanoparticules métalliques dans des conditions pertinentes pour l'environnement-une revue. *Science of the Total Environment*. 653 : 1042-1051.
- **Sheela, T., Nayaka, Y.A., Viswanatha, R., Basavanna, S., and Venkatesha, T.G., 2012.** Kinetics and thermodynamics studies on the adsorption of Zn (II), Cd (II) and Hg (II) from aqueous solution using zinc oxide nanoparticles. *Powder Technology*. 217 : 163-170.
- *Toxicology and Chemistry*. 28 : 1633-1642.
- **Song, Y., Jin, L., and Wang, X., 2016.** Cadmium absorption and transportation pathways in plants. *International Journal of Phytoremediation*. 19 (2) : 133-141.
- **SSDS, 1993.** Soil survey manual. United States Department of Agriculture.
- **Sresty, T.V.S., and K.V.M. Rao. 1999.** Ultrastructural Alterations in Response to Zinc and Nickel Stress in the Root Cells of Pigeon Pea. *Environmental and Experimental Botany*. 41: 3-13.
- **Sturikova, H., Krystofova, O., Huska, D., and Adam, V., 2018.** Zinc, zinc nanoparticles and plants. *Journal Hazard Mater*. 349 : 101-110.
- **Ebbes, S. D., and Kochian, L. V., 1997. Toxicity of Zinc and Copper to Brassica Species: Implications for Phytoremediation. Journal of Environmental Quality. 26: 767- 781**
- **Tiquia, M.S. and Tam, N.F.Y. 1998.** Elimination of phytotoxicity during cocomposting of spent pig-manure sawdust litter and pig sludge. *Bioresource Technology*. 65: 43-49.
- **Tudoreanu, L., and Phillips. C.J.C., 2004.** Modelling cadmium uptake and accumulation in plants. *Advances in Agronomy*. 84 : 121-157.
- **Tran, T.A., and Popova, L.P., 2013.** Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turkish Journal of Botany*. 37: 1-13.
- **Van Steveninck, R. F. M., Babare, A. Fernando, D. R, and Van Steveninck, M. E., 1994.** The binding of zinc, but not cadmium, by phytic acid in roots of crop plants. *Plant Soil*. 167 : 157-164.
- **Vallee, B. L., and Falchuk, K. H., 1993.** The biochemical basis of zinc physiology. *Physiological reviews*. 73 (1) : 79-118.
- **Wagner, G. J., 1984.** Characterization of a cadmium-binding complex of cabbage leaves. *Plant Physiology*. 76 : 797- 805.
- **Wang, H., Xu, C., Luo, Z. C., Zhu, H. H., Wang, S., Zhu, Q. H., Huang, D.Y., Zhang, Y. Z., Xiong, J., and He, Y.B., 2018.** Foliar application of Zn can reduce cd concentrations in rice (*Oryza sativa L.*) under field conditions. *Environmental Science and Pollution Research*. 25 : 29287-29294.
- **Wang, Z., Xie, X., Zhao, J., Liu, X., Feng, W., and White, J.C. 2012.** Xylem- and phloembased transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays L.*). *Environmental Science and Technology*. 46 : 4434-4441.
- **Watson, J.-L., Fang, T., Dimkpa, C. O., Britt, D. W., McLean, J. E., Jacobson, A., and Anderson, A. J. 2014.** The phytotoxicity of ZnO nanoparticles on wheat varies with soil properties. *BioMetals*. 28 (1) : 101-112. doi : 10.1007/s10534-014-9806-8.
- **Wedepohl, H.K., 1995.** The composition of the continental crust. *Geochimica et Cosmochimica Acta. Elsevier Science*. 59 (7) : 1217-1232.
- **Weigel, H. J. and Jager, H. J., 1980.** Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants. *Plant Physiology*. 65: 480-482.
- **Welch, R.M., 1986.** Effects of Nutrient Deficiencies on Seed Production and Quality. *Advances in Plant Nutrition*. 2 : 205-247.
- **Welch, R. M., and Norvell, W. A., 1999.** Mechanisms of Cadmium Uptake, Translocation and Deposition in Plants. *Cadmium in Soils and Plants*. 125-150.
- **Wu, Q.T., Morel, J. L., and Guckert, A., 1989.** Influence de la forme de l'azote combiné sur le transfert sol-plante du cadmium. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*. 309 (3) : 215-220.

- **Wyszkowska, J., Borowik, A., Kucharski, M., and Kucarski, J., 2013.** Effect of cadmium, copper and zinc on plants, soil microorganisms and soil enzymes. *Journal of Elementology*. 18 (4) : 769-796.
- **Xiang L., H.-M. Zhao, Y.-W. Li., 2015.** Effets de la taille et de la morphologie des nanoparticules d'oxyde de zinc sur la germination des graines de chou chinois. *Environmental Science and Pollution Research*. 22 (14) :10452-10462.
- **Yadav, S.K., 2010.** Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *Journal of Botany*. 76 : 167–179.
- **Yamabi, S., and Imai, H., 2002.** Growth conditions for wurtzite zinc oxide films in aqueous solutions. *Journal of Materials Chemistry*. 12 (12) : 3773-3778.
- **Yang, Z., Chen, J., Dou, R., Gao, X., Mao, C., and Wang, L., 2015.** Assessment of the Phytotoxicity of Metal Oxide Nanoparticles on Two Crop Plants, Maize (*Zea mays L.*) and Rice (*Oryza sativa L.*). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12 (12) : 15100-15109.
- **Younis, U., Malik, S.A., Rizwan, M., Qayyum, M.F., Ok, Y.S., Shah, M.H.R., Rehman, R. A., and Ahmad, N., 2016.** Biochar enhances the cadmium tolerance in spinach (*Spinacia oleracea*) through modification of Cd uptake and physiological and biochemical attributes. *Environmental Science and Pollution Research*. 23 : 21385-21394.
- **Zhang, H., Wang, R., Chen, Z., Cui, P., Lu, Hao., Yang, Y., and Zhang, H., 2021.** The Effect of Zinc Oxide Nanoparticles for Enhancing Rice (*Oryza stiva L.*) Yield and Quality. *Agriculture*. 11 : 1247.
- **Zhang, S., and Song, J., 2018.** Geochemical cadmium anomaly and bioaccumulation of cadmium and lead by rapeseed (*Brassica napus L.*) from noncalcareous soils in the Guizhou Plateau. *Science of the Total Environment*. 644 : 624-634.
- **Zhang, X., Chen, D., Zhong, T., Zhang, X., Cheng, M., and Li, X., 2014.** Assessment of cadmium (Cd) concentration in arable soil in China. *Environmental Science and Pollution Research*. 22 (7) : 4932-4941.
- **Zhang, X.D., Sun, J. Y., You, Y. Y., Song, J. B., and Yang, Z. M., 2018.** Identification of Cd-responsive RNA helicase genes and expression of a putative BnRH 24 mediated by miR158 in canola (*Brassica napus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 157 : 159-168.
- **Zhao, Z., Zhu, Y.G., and Cai, Y.L., 2005.** Effects of zinc on cadmium uptake by spring wheat (*Triticum aestivum, L.*): long-time hydroponic study and short-time109 Cd tracing study. *Journal of Zhejiang University Science*. 6A : 643-648.
- **Zhour, K., 2014.** Élaboration et caractérisation des nanopoudres de ZnO par voie chimique sol-gel, Mémoire de Master, Université Mohamed Khider Biskra, 45p.

Abstract

Cadmium is a non-essential element causing severe toxicity symptoms in plants, in addition to causing dangerous health problems due to its accumulation in animal organisms and in humans' through the food chain. Nanoparticles (NPs) are recently used as a new strategy to directly ameliorate Cd stress and act as nano-fertilizers. The aim of the present study is to explore the effects of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) at different concentrations (50, 100, 150, 1000 mg/kg soil) on germination, leaf elongation, leaf fresh weight, chlorophyll a, b and total chlorophyll contents, protein, malondialdehyde (MDA) in oilseed rape (*Brassica napus L.*) under Cd stress (2mg/kg soil). For this purpose, rapeseed seeds exposed to Cd were treated with concentrations of ZnO NPs for 45 days in pots containing soil from Guelma. Rapeseed plants supplemented with ZnO NPs under Cd toxicity revealed non-significant differences in germination rates of the rapeseed. ZnO NPs had positive effects compared to the control concentration (C: 2 mg/kg soil) on leaf fresh weight at 150 mg/kg, chlorophyll content, and protein content. ZnO nanoparticles significantly prevented increases in MDA which directly shows a decrease in the rate of lipid peroxidation which may critically reflect the occurrence of oxidative stress level in cells.

In conclusion, the application of ZnO nanoparticles to Cd-contaminated soil is found to be very effective in improving rapeseed leaf fresh weight, photosynthesis, protein level and antioxidant enzyme activity. This can be attributed mainly to the reduction of oxidative damage induced by ZnO NPs supplementation.

Keywords: cadmium, nanoparticles, ZnO, rapeseed, germination, leaf elongation, leaf fresh weight, chlorophyll, protein, MDA.

ملخص

الكاديوم (Cd) عنصر غير أساسي يسبب أعراض سمية خطيرة للنباتات، بالإضافة إلى أنه يسبب مشاكل صحية جسيمة بسبب تراكمه في الكائنات الحية وفي الإنسان من خلال انتقاله في السلسلة الغذائية. تستخدم الجسيمات النانوية (NPs) مؤخرًا كاستراتيجية جديدة للتقليل من إجهاد الكاديوم بشكل مباشر وكأسمدة نانوية. الهدف من هذه الدراسة هو اكتشاف آثار جزيئات أكسيد الزنك النانوية (NPs ZnO) بتركيزات مختلفة (50، 100، 150، 1000 مغ/كغ من التربة) على عملية إنبات البذور، استتالة الجزء الهوائي من النبات، الوزن الطازج للأوراق، الكلوروفيل أ و ب، والمحتوى الكلي للبروتينات والمالنديالديهيد (MDA)، وذلك في بذور اللفت (*Brassica napus L.*) تحت إجهاد عنصر الكاديوم بتركيز 2 مغ/كغ من التربة. لهذا الغرض، يتم معالجة هذه البذور بتركيز من (Cd) و (NPsZnO) لمدة 45 يومًا في إصيصات تحتوي على تربة من ولاية قالمة.

أظهرت نباتات بذور اللفت الموجودة في تربة مجهزة بالكاديوم والمعالجة بالجسيمات النانوية اختلافات ليس لها معنى في معدلات الإنبات. (NPsZnO) لها تأثيرات إيجابية مقارنة بالعينة التي تحتوي على الكاديوم فقط على الوزن الطازج للأوراق عند تركيز 150 مغ/كغ من التربة، وكذلك على محتوى الكلوروفيل، ومحتوى البروتين. تثبط (NPsZnO) بشكل كبير الزيادات في (MDA) مما يظهر انخفاضًا مباشرًا في معدل بيروكسيد الدهون، والذي يعكس بشكل حاسم بداية مستوى الإجهاد التأكسدي في الخلايا.

في الختام، فإن تطبيق الجسيمات النانوية لأكسيد الزنك على التربة الملوثة بالكاديوم فعال للغاية في تحسين الوزن الطازج لأوراق بذور اللفت، وشدة التركيب الضوئي، ومستوى البروتين، ونشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة. يمكن أن يرجع ذلك بشكل أساسي إلى تقليل الضرر التأكسدي الناجم عن الجسيمات النانوية لأكسيد الزنك.

الكلمات المفتاحية: كاديوم، جسيمات نانوية، ZnO، لفت، إنبات، استتالة الجزء الهوائي من النبات، وزن طازج للأوراق، كلوروفيل، بروتين، MDA.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par :

BOUTEMIN Zineb

LAFALA Khouloud

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie fondamentale et Appliquée

Intitulé : Étude de la phytotoxicité du cadmium en présence de nanoparticules de ZnO sur le colza, *Brassica napus L.*

Résumé

Le cadmium est un élément non essentiel provoquant de graves symptômes de toxicité chez les plantes, en plus de poser des problèmes de santé dangereux en raison de son accumulation dans les organismes animaux et chez l'humain à travers la chaîne alimentaire. Les nanoparticules (NPs) sont récemment utilisées comme une nouvelle stratégie pour améliorer directement le stress du Cd et agissent comme des nano-engrais. Le but de la présente étude est d'explorer les effets des nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs ZnO) à différentes concentrations (50, 100, 150, 1000 mg/kg du sol) sur la germination, l'élongation foliaire, le poids frais des feuilles, les teneurs en chlorophylle a, b et totale, les protéines, la malondialdéhyde (MDA) chez le colza (*Brassica napus L.*) sous stress cadmique (2mg/kg du sol). A cet effet, les graines de colza exposées au Cd sont traitées *via* des concentrations de NPs ZnO pendant 45 jours dans des pots contenant du sol provenant de Guelma. Les plantes de colza supplémentées en NPs ZnO sous la toxicité de Cd ont révélé des différences des taux de germination non significatives des graines du colza. Les NPs ZnO ont des effets positifs par rapport à la concentration contrôle (C : 2 mg/kg du sol) sur le poids frais des feuilles à 150 mg/kg, la teneur en chlorophylle, et en protéines. Les NPs ZnO ont considérablement empêchés les augmentations de MDA qui montre directement une diminution de taux de peroxydation lipidique qui peut refléter de manière critique l'apparition d'un niveau de stress oxydatif dans les cellules.

En conclusion, l'application de nanoparticules de ZnO au sol contaminé par le Cd s'avère très efficace pour améliorer le poids frais des feuilles de colza, la photosynthèse, le taux de protéines et l'activité des enzymes antioxydantes. Cela peut être attribué principalement à la réduction des dommages oxydatifs induite par la supplémentation en NPs ZnO.

Mots-clefs : cadmium, nanoparticules, ZnO, colza, germination, élongation foliaire, poids frais des feuilles, chlorophylle, protéines, MDA.

Laboratoires de recherche : Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt)

Jury d'évaluation :

Encadreur : AFRI-MEHENNAOUI F-Zohra Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1

Co-Encadreur : CHARCHAR Nabil MRA- Centre de Recherche en Biotechnologie

Examineur 1 : TOUATI Laid MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1

Examineur 2 : KARA Karima MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1