



République Algérienne Démocratique et populaire
Ministre de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département des Sciences Biologiques

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Spécialité : Biodiversité et Environnement

THÈME

Contribution à l'étude de l'influence d'un herbicide, le Glyphosate et d'un fongicide, le Mancozèbe, sur la germination, la croissance et la physiologie de deux Légumineuses : *Lathyrus sativus L.* et *Trifolium resupinatum L.*)

Présentée par :

M^{elle} HABERA Naima

Jury :

Présidente : M^{elle} HANNACHI L. Maître Conférences A U.M.M.T.O

Promotrice : M^{elle} DAOUDI H. Maître Conférences B U.M.M.T.O

Examineurs : Mr OUDJIANE A. Maître assistant A U.M.M.T.O

M^{me} CHOUAKI S. Maître assistante A U.M.M.T.O

Promotion 2017-2018

Remerciement

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant qui m'a donnée le courage et la force afin de réaliser ce travail.

Je tiens à remercier une personne chère pour moi, un exemple de savoir et de sagesse, ma promotrice M^{me} Daoudi H. Pour m'avoir encadrée et aidée à mener cette étude à terme, pour son orientation, sa disponibilité, ses encouragements, ses précieux conseils qui ont été indispensables. Je lui témoigne ma reconnaissance pour ce thème passionnant qui m'a permis de vivre une expérience inoubliable.

Je tiens également à remercier M^m Hannachi L. la présidente du jury pour avoir bien voulu m'honorer par sa présence, afin d'évaluer mon travail et pour ses précieuses remarques et son aide.

J'adresse mes sincères remerciements à M^m Chouaki S. membre de jury pour m'avoir accordée de son précieux temps et ses conseils, et aussi pour avoir évalué mon travail.

Je remercie vivement M^r Oudjiane A. examinateur, de m'avoir accordée de son précieux temps et ses conseils, et aussi pour avoir évalué mon travail.

Sans oublier l'ingénieure de labo M^m Ammar Khoudja N. que je remercie pour avoir mis à ma disposition le matériel de laboratoire nécessaire et pour sa générosité.

Enfin, mes remerciements vont à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Au soleil de ma vie, Maman. M^{me} Habera Rabahî Sadia, qui a fait de moi ce que je suis, rien au monde ne vaut les efforts que tu as fournis, jour et nuit, pour mon éducation et mon bien-être. Ce travail est le fruit de ton dévouement, de tes sacrifices, consentis pour mon éducation et ma formation. Tu n'as pas cessé de m'encourager et de prier pour moi, puisse Dieu le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longévité et bonheur.

A mon cher papa M Habera Taher, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Que dieu te protège et t'accorde la santé et une longue vie.

A mes Adorables sœurs Dalila et Fatma que j'estime être chanceuse d'avoir. Je vous remercie infiniment pour votre soutien et vos encouragements.

A mes chers frères que j'aime beaucoup : Abderrazak, Toufik, Saïd et à mon poussin Mouhamed, qui m'ont toujours soutenue et encouragée.

A mes grands-parents maternels Rabahî Idir et Tontar Malha, source de savoir et de sagesse que j'aime beaucoup, je vous souhaite la bonne santé et une longue vie.

A la mémoire de ma grand-mère paternelle qui a toujours attendu ma réussite, j'oublierai jamais tes conseils, que Dieu le tout puissant, t'accueille en son vaste paradis.

A mes chères amies et sœurs Faïza et Taous, merci pour votre amitié et vos précieux conseils. Je vous souhaite un avenir radieux.

A ma chère Dyhia, ce fut un immense plaisir de travailler avec toi dans le même labo, on a partagé des moments inoubliables.

A mon patron M^r Naït Kaci, qui m'a accordée un temps précieux afin de concilier travail et étude.

A toutes les filles de l'équipe de judo sans citer les noms, qui m'ont toujours encouragée. On a passé des moments que je ne regretterai jamais, de sérieux et de folie.

A toute ma famille, mes amis, mes camarades et mes collègues qui m'ont soutenue et encouragée.



Habera Naïma

Liste des figures :

Figure 1 : Structure chimique de la forme acide du glyphosate (Marc, 2004)

Figure 2 : Structure chimique du Mancozèbe (Gullino, 2010)

Figure 3 : Processus impliqués dans le devenir des pesticides dans les sols (Barriuso et al., 1996 in Qasem, 2011)

Figure 4: Planche descriptive de *Lathyrus sativus* (Curtis, 2006 in Malek, 2012)

Figure 5 : Planche descriptive de *Trifolium resupinatum* L. (Jorquera, 2012 in Suter, 2013)

Figure 6 : La courbe étalon du glucose

Figure 7: Evolution des taux de germination, au cours du temps, de *Lathyrus sativus*, Témoin (T) et traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly 1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2)

Figure 8: Evolution des taux de germination, au cours du temps de, *Trifolium resupinatum*, Témoin (T) et traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly 1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2)

Figure 9 : Graines de *T. resupinatum* et *L. sativus* témoins et traitées au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly 1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2), après 5 jours de germination en boîtes de Pétri

Figure 10: Biomasses sèches des plantules de *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), après 20 jours, dans les boîtes de Pétri

Figure 11: Biomasses sèches des plantules de *T. resupinatum*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), après 20 jours, dans les boîtes de Pétri (les groupes C)

Figure 12: Plantules de *T. resupinatum* et *L. sativus* témoins et traitées au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly 1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2), après 12 jours de germination dans les boîtes de Pétri

Figure 13: Teneurs en eaux des plantules de *L. sativus* témoin et traitées au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), après trois semaines, dans les boîtes de Pétri

Figure 14: Teneurs en eau des plantules de *T. resupinatum* témoin et traitées au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), après trois semaines, dans les boîtes de Pétri

Figure 15 : Evolution des taux de levée, en fonction du temps, de *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrite (Gly1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2)

Figure 16 : Taux de levée final de *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrite (Gly1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2)

Figure 17: Poids moyen du système aérien de *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), deux mois après le semis

Figure 18: Poids moyen du système racinaire de *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly 1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2), deux mois après le semis

Figure 19: Poids moyen d'une feuille de *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly 1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2), deux mois après le semis

Figure 20 : Une feuille composée avec vrilles terminales de *L. sativus*

Figure 21: Nombre de nodules, après deux mois de culture, chez *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (G2 et Man 2)

Figure 22 : Nodules présents chez le témoin et les traités (a= Témoin et b= traité à Man 2)

Figure 23 : Evolution du nombre de fleurs, au cours du temps, chez *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly 1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2)

Figure 24 : Nombre de fleurs, après deux mois du semis, chez *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (G2 et Man 2)

Figure 25: Fleurs de *L. sativus*, de trois couleurs (roses, bleues et blanches), obtenues deux mois après le semis

Figure 26: Evolution du nombre de gousses chez *L. sativus*, au cours du temps, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (G2 et Man 2)

Figure 27: Nombre de gousses, après deux mois du semis, chez *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2)

Figure 28: Gousses de *L. sativus* a portées par un plant, b détail d'une gousse contenant trois graines et c gousse ouverte dévoilant une graine

Figure 29 : Teneur en eau du système aérien chez *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), 2 mois après le semis

Figure 30: Teneur en eau des feuilles chez *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), après 2 mois du semis

Figure 31: Teneur en eau du système racinaire de *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), après 2 mois du semis

Figure 32: Teneur en chlorophylle (a) des feuilles de *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), après 2 mois du semis

Figure 33 : Teneur en chlorophylle (b) des feuilles de *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), après 2 mois du semis

Figure 34: Teneur en chlorophylles (a+b) des feuilles de *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), après 2 mois du semis

Figure 35 : Teneur en caroténoïde des feuilles chez *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), après 2 mois du semis

Figure 36: Teneur en sucre solubles des feuilles de *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), après 2 mois du semis

Liste des tableaux :

Tableau 1: Classification des pesticides selon la cible visée (INSERM, 2013 in Gueddou et Nedjaa, 2017)

Tableau 2 : Classification des herbicides (Calvet et al., 2005)

Tableaux 3: Taux de germination obtenus en boîtes de Pétri, au cours du temps, chez *Lathyrus sativus* et *Trifolium resupinatum*, témoins et traités au Glyphosate (Gly 1 et 2) et au Mancozèbe (Man 1 et 2)

Tableau 4 : comparaison des résultats obtenus entre la Gesse et le Trèfle

Tableau 5 : Caractéristique du sol utilisé dans l'expérience

Tableau 6 : Taux de levée de *lathyrus sativus* en fonction des jours

Tableau 7 : Nombre de fleurs de *lathyrus sativus* en fonction des jours

Tableau 8 : Nombre de gousses de *lathyrus sativus* en fonction des jours

Tableau 9 : Résultats de différents essais sur *lathyrus sativus* dans le substrat

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale

Chapitre I : synthèse bibliographique

1-Les pesticides.....	4
1-1-Définition.....	4
1-2- Classification.....	4
1-3- Avantage des pesticides.....	5
1-4- Les herbicides.....	5
1-4-1- Définition.....	5
1-4-2- Classification.....	6
1-4-3- Mode d'action.....	6
1-4-4- Présentation de l'herbicide étudié : le Glyphosate.....	7
1-5- Les fongicides.....	8
1-5-1- Définition.....	8
1-5-2- Classification.....	8
1-5-3- Modes d'action.....	10
1-5-4- Présentation du fongicide étudié : le Moncozèbe.....	10
1-6- Devenir des pesticides dans l'environnement.....	11
1-7- Impacts des pesticides.....	13
1-7-1- Impact sur le sol.....	13
1-7-2- Impact sur végétaux.....	14
1-7-3- Impact sur l'Homme.....	15

1-7-4- Impact sur les animaux.....	16
2- Présentation des espèces étudiées : la Gesse et le Trèfle.....	16
2-1- La Gesse commune (<i>Lathyrus sativus L.</i>).....	16
2-1-1- Classification.....	17
2-1-2- Caractéristiques botaniques.....	17
2-1-3- Exigences culturales.....	18
2-1-4- Intérêts économique et écologique.....	19
2-2- Le Trèfle (<i>Trifolium resupinatum L.</i>).....	20
2-2-1- Classification.....	20
2-2-2- Caractéristiques botaniques.....	20
2-2-3- Exigences culturales.....	21
2-2-4- Intérêts économique et écologique.....	22
2-3- Les maladies des légumineuses.....	22
3- Utilisation des pesticides en Algérie.....	24
Chapitre II : Matériels et méthodes	
1-Provenances des graines.....	24
1-1-La Gesse.....	24
1-2- Le Trèfle.....	24
2- Les pesticides utilisés.....	24
2-1- Le Glyphosate.....	24
2-2- Le Moncozèbe.....	24
3- Etude de l'influence du Glyphosate et du Moncozèbe sur la Gesse et le Trèfle dans les boîtes Pétri.....	24
3-1- Traitement par le Glyphosate et le Moncozèbe.....	24
3-2- Mise en germination.....	25

3-3- Détermination des taux de germination.....	26
3-4- Evaluation de la croissance.....	26
3-5- Détermination de la teneur en eau.....	26
4- Etude de l'influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur la Gesse dans le substrat...27	
4-1- Le substrat utilisé.....	27
4-2- Etude des caractéristiques du sol.....	27
4-2-1- Le pH.....	27
4-2-2- La Conductivité électrique.....	27
4-3- Le traitement du substrat avec le Glyphosate et le Mancozèbe.....	28
4-4- Mise en germination.....	28
4-5- Etude de l'influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur le taux de levée.....	29
4-6- Etude de l'influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur la croissance.....	29
4-7- Etude de l'influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur la teneur en eau.....	29
4-8- Etude de l'influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur la teneur en pigments (chlorophylles et caroténoïdes).....	30
4-9- Etude de l'influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur la teneur en sucres solubles.....	30
5- Analyse statistique.....	31

Chapitre III : résultats et discussion

1-Influence du Glyphosate et du Moncozèbe sur la Gesse et le Trèfle dans les boites de Pétri.....	32
1-1- Effet sur la germination.....	32
1-2- Effet sur la croissance.....	36
1-3- Effet sur teneur en eau des plantules.....	39
1-4- Comparaison des résultats obtenus entre la Gesse et le Trèfle, sur boites de Pétri.....	40

2- Influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur la Gesse sur substrat.....	41
2-1- Caractéristiques du sol utilisé.....	41
2-2- Effet sur le taux de levée.....	42
2-3- Effet sur la croissance.....	44
2-3-1- La biomasse du système aérienne.....	44
2-3-2- La biomasse racinaire.....	44
2-3-3- Poids moyen d'une feuille.....	45
2-3-4- Effet sur le nombre de fleurs.....	47
2-3-5- Effet sur le nombre de gousses.....	48
2-3-6- Effet sur le nombre de nodules.....	50
2-4- Effet sur la teneur en eau.....	53
2-4-1- Teneur en eau du système aérien.....	53
2-4-2- Teneur en eau des feuilles.....	53
2-4-3- Teneur en eau du système racinaire.....	54
2-5- Effet sur la teneur en pigments.....	55
2-5-1- Teneur en chlorophylle (a).....	55
2-5-2- Teneur en chlorophylle (b).....	56
2-5-3- Teneur en chlorophylles (a+b).....	57
2-5-4- La teneur en caroténoïde.....	58
2-6- Effet sur la teneur en sucres solubles.....	59
2-7- Récapitulation des résultats obtenus chez la Gesse sur substrat (tab).....	60
3- Discussion.....	62
Conclusion	65
Références bibliographiques	
Annexes	



Introduction générale

L'évaluation des risques des pesticides est une étape clé dans la prévention de la contamination de l'environnement. En effet, l'utilisation des pesticides engendre des risques de contaminations chimiques de l'air, de l'eau et du sol qui peuvent avoir des conséquences toxicologiques (pour l'Homme) et écotoxicologiques (pour les organismes vivants autres que l'Homme) (Calvet *et al.*, 2005 in Mamy, 2008).

De façon générale, l'évaluation des risques repose sur une évaluation des impacts qui résultent du croisement de l'exposition et des effets vis-à-vis de la cible considérée. L'exposition peut être assimilée à la présence du pesticide pendant un temps donné dans un compartiment donné (eau, sol, air), l'effet se rapporte à l'action toxique du pesticide sur l'organisme vivant (Barriuso, 2004).

De nombreux pesticides sont utilisés en agriculture afin d'améliorer les rendements agricoles. Les herbicides et les fongicides constituent respectivement la deuxième et la troisième places des pesticides utilisés dans le monde (Ramade, 2005). On estime que 2,5 millions de tonnes de pesticides sont appliquées chaque année sur les cultures de la planète et selon la plupart des chercheurs 99,7% des substances déversées s'en vont «ailleurs» (Pimentel, 1995).

Ces pesticides offrent des avantages incontestables. Ils sont devenus un besoin pour les agriculteurs, car ils permettent l'intensification de l'agriculture afin de couvrir la demande exprimée dans les marchés sur les produits agricoles. Cependant, ils peuvent générer des effets négatifs immédiats ou à long terme sur de nombreux organismes. Leurs risques auraient même dépassé l'utilité de ces derniers, parce qu'ils endommagent l'environnement (Merghid *et al.*, 2017)

Les pesticides sont parmi les polluants les plus dangereux de l'environnement en raison de leurs stabilités, leurs mobilités, et les effets à long terme sur les organismes vivants. Le devenir des pesticides concerne tout le milieu naturel dans son ensemble (sol, eau et air) et le sol reste un compartiment clé car une grande proportion des pesticides appliqués lors du traitement des cultures arrive au sol, par application directe et/ou par lessivage du feuillage (Mokhtari, 2012).

Les effets des pesticides sur l'environnement sont nombreux; ils ont un effet sur La santé humaine, la faune et la flore par contamination des eaux, le sol et l'air (Vincent, 2000 in Merghid *et al.*, 2017)

Ainsi, de nombreuses espèces végétales cibles et non cibles (Hayo, 1997) sont affectées par les pesticides. Parmi les effets négatifs signalés, une diminution de leur croissance et de leur reproduction (Hayo, 1997).

Les effets d'un pesticide sur un organismes vivant dépend du degré d'exposition (résultant de sa dispersion et de sa concentration dans l'environnement) et de ses caractéristiques toxicologiques (Severn et Ballard, 1990 ; Emans *et al.*, 1992).

En Algérie, d'après l'Institut National de la Protection des Végétaux, plus de 480 pesticides sont enregistrés dans le domaine de l'agriculture (Mokhtari, 2012) et de nombreuses cultures telles que les céréales et les légumineuses sont traitées.

Les légumineuses présentent un intérêt certain pour l'agriculture algérienne et offrent une gamme de diversité très importante. La population algérienne est consommatrice de légumineuses alimentaires et les espèces cultivées sont prioritairement celles à destination humaine (Abdelguerfi-Laouar *et al.* 2001 in Medoukali, 2016) telles que les pois chiche, lentille, fève, haricot...etc (Mebarki, 2018). Les légumineuses fourragères cultivées sont peu nombreuses car elles sont perçues par les agriculteurs comme une ressource naturelle qui n'exige pas d'être cultivée et entretenue, et se limitent à *Medicago sativa*, au *Trifolium* et à *Vicia sativa* en association avec des graminées (Abdelguerfi-Laouar *et al* 2002 in Medoukali, 2016).

Les espèces des genres *Lathyrus* et *Trifolium* sont cultivées en Algérie comme espèces alimentaires et fourragères respectivement (Chouaki, 2006).

Les espèces du genre *Lathyrus* dont la plus connue est *Lathyrus sativus* figurent parmi les cultures sous-utilisées ou négligées, en Algérie, malgré leurs importances économique et écologique (Grela, 2012).

Les espèces du genre *Trifolium* sont d'une importance agricole considérable et sont cultivées comme plantes fourragères (Medoukali, 2016).

Notre mémoire se situe dans le cadre de la chimie verte et de la préservation de l'environnement. C'est une étude sur l'influence de deux pesticides, couramment utilisés en agriculture, en Algérie : un herbicide, le Glyphosate et un fongicide, le Mancozèbe, sur deux espèces de légumineuses : *Lathyrus sativus* et *Trifolium resupinatum* en boîtes de Pétri et sur substrat. Cette influence a été évaluée sur de nombreux paramètres physiologiques : la

germination, la croissance et des paramètres biochimiques (teneurs en pigments et en sucres solubles). Nous avons testé deux concentrations de ces pesticides : la dose prescrite par les fabricants et le double de cette dose afin d'évaluer l'effet d'une éventuelle accumulation de ces pesticides.

Ce mémoire est divisé en trois chapitres :

- Un premier chapitre consacré à une synthèse bibliographique sur les pesticides, essentiellement le Glyphosate et le Moncozèbe et les légumineuses étudiées (*Lathyrus sativus* et *Trifolium resupinatum*)
- Un deuxième chapitre relatant matériels et méthodes utilisés
- Un dernier chapitre consacré aux résultats obtenus suivie d'une discussion et une conclusion.



*Chapitre I : Synthèse
bibliographique*

1-Les pesticides :

1-1-Définition :

Etymologiquement, un pesticide est un "tueur de nuisibles" (Rainaud, 2013).

Un pesticide est toute substance ou association de substances qui est destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales, et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant nuisibles durant la production, la transformation, le stockage, le transport ou la commercialisation des denrées alimentaires, des produits agricoles, du bois et des produits ligneux, ou des aliments pour animaux, ou qui peut être administrée aux animaux pour combattre les insectes, les arachnides et d'autre parasites exogènes et endogènes (FAO, 1986).

Un produit pesticide est composé de deux types de substances :

- Une ou plusieurs matières actives qui confèrent au produit l'effet désiré.
- Un ou plusieurs additifs qui renforcent l'efficacité et la sécurité du produit par exemple des solvants (Anonyme).

1-2-Classification :

Selon Calvet (2005), les substances actives sont souvent classées en fonction de la nature de la cible visée ou de la nature chimique de la principale substance active.

La classification la plus utilisée dans le monde est celle utilisant le critère nature de la cible visée. Selon cette classification, plusieurs catégories de pesticides, selon les organismes vivants visés, sont distinguées dont les principales sont les insecticides, les herbicides et les fongicides (Tableau 1).

Tableau 1: Classification des pesticides selon la cible visée
(INSERM, 2013 *in* Gueddou et Nedjja, 2017)

Pesticide	Utilisation	Exemples
-Insecticides	contre les insectes nuisibles	Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), déltaméthrine.
-Fongicides	contre les champignons phytopathogènes ou vecteurs de mycoses animales ou humaines.	Moncozèbe, hexaconazol, chlorothonil
-Herbicides	contre toute végétation indésirable.	2-4D, glyphosate
-Acaricides	contre des acariens	Abamectine, nicotine
-Nématicides	contre les nématodes phytoparasites	Bromomethane, chloropicrine
- Molluscicides	contre les gastéropodes	Methiocarbe, mercaptodiméthur
- Rodenticides	contre les rongeurs	Warfarine, phosphure de zinc
-Avicides	contre les oiseaux ravageurs	Strychnine

1-3-Avantages des pesticides :

D'après Cooper et Dobson (2007), le bénéfice le plus considérable de l'introduction des pesticides est l'augmentation des rendements dans les exploitations agricoles. Pour les agriculteurs, l'utilisation de ces produits est un gain de temps et d'argent non négligeable. Damalas (2009), a, également, ajouté des avantages esthétiques, les consommateurs privilégiant les fruits et légumes sans défauts.

Au niveau de la santé humaine, les insecticides sont des outils très importants de la lutte contre certains vecteurs de maladies (Cottard, 2008).

1 4- Les herbicides :

1-4-1-Définition :

Les herbicides constituent aujourd'hui le groupe de pesticides le plus important, le plus utilisé après les insecticides (Cottard, 2008). Ce sont des produits chimiques organiques ou inorganiques (ne contiennent pas de carbone) (California Weed Conference, 1985 *in* Qasem, 2011) qui inhibent ou détruisent les mauvaises herbes qui sont en compétition pour l'eau et les sels minéraux avec les cultures (Ramade, 2012).

1-4-2-Classification :

Les herbicides sont classés selon plusieurs critères. Par souci de simplicité, ils sont classés en fonction de leur mode d'application et de leur mode d'action (Periquet, 2004). En mode de pulvérisation, on distingue trois familles : antigermes, de contact et systémique (Tableau 2).

Tableau 2 : Classification des herbicides (Calvet *et al.*, 2005)

Famille	Utilisation	Exemples
Antigermes	-Dans tous types de culture (légumes, céréales, colza) -Contre la germination des mauvaises herbes spécifiquement: Dicotylédones annuelles, Graminées, Vivaces -Molécules sélectives selon le couple culture/mauvaises herbes.	LASSO (alachlore)
De contact (défoliant)	-Destruction de la partie aérienne -Sélectivement pour le blé et la pomme de terre	GRAMOXONE (interdit aujourd'hui) et REGLONE
Systémique	-Tuant jusqu'à la racine	Familles des Sulfonylurées ABSOLU (maïs, céréales) ALLI

1-4-3-Modes d'action :

Les herbicides agissent selon plusieurs modes d'action en inhibant les processus physiologiques ou les voies de biosynthèse.

Les inhibiteurs appliqués au niveau foliaire sont des inhibiteurs de la croissance, de la photosynthèse au niveau des photosystèmes, de la synthèse des lipides, de la synthèse des acides aminés et des destructeurs de la membrane cellulaire (Periquet *et al.*, 2004 ; Roy, 2015).

Les herbicides appliqués au niveau du sol sont des inhibiteurs de la division cellulaire ou des destructeurs de pigments (Periquet *et al.*, 2004).

1-4-4-Présentation de l'herbicide étudié : le Glyphosate

Le glyphosate, étudié dans le cadre de ce mémoire, est l'herbicide le plus utilisé dans le monde, principalement en agriculture (Duke, 2012). Il fut commercialisé pour la première fois en 1974 sous l'appellation de Roundup (Williams *et al.*, 2000 in Marc, 2004).

Le glyphosate de formule chimique $C_3H_8NO_5P$ (Bertonnier *et al.*, 2012) est le N-phosphonométhyl glycine, dérivé d'un acide aminé, la glycine, appartenant à la famille des aminophosphates (Malik *et al.*, 1989; Maroni *et al.* 2000 in Marc, 2004). C'est un herbicide de post-émergence, efficace, non sélectif à large spectre tuant toutes les mauvaises herbes par inhibition de leur croissance (Rainaud, 2013), (figure 1).

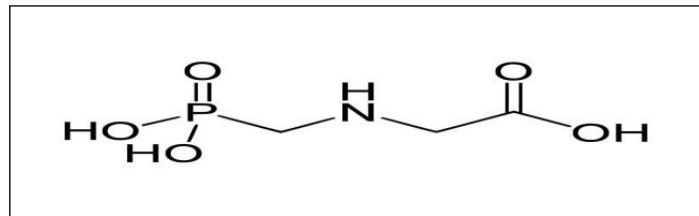


Figure 1 : Structure chimique de la forme acide du glyphosate (Marc, 2004)

Le glyphosate se présente sous la forme d'une poudre cristalline blanche inodore, modérément soluble dans l'eau et insoluble dans la plupart des solvants organiques. Il s'agit d'un acide faible organique amphotère, qui peut se trouver sous différentes formes ionisées en fonction du pH (Rainaud, 2013).

Le glyphosate est faiblement volatil (pression de vapeur = 13,1 μ Pa) et de forte densité (1,71 g/ml), sa capacité à passer en phase gazeuse pour rejoindre l'air ambiant après une pulvérisation semble ainsi plus tenir de la dérive des gouttelettes les plus fines qu'à sa vaporisation depuis les sols (Rainaud, 2013).

Il est absorbé par la plante au niveau des feuilles puis il est rapidement véhiculé par la sève jusqu'à l'extrémité des racines et rhizomes (Smith et Oehme, 1992; Solomon et Thompson, 2003 in Marc, 2004).

C'est en 1980 que la cible moléculaire du glyphosate fut identifiée ; il s'agit de la 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthétase (EPSPS) (Voet et Voet 1998 in Fortier *et al.*, 2005), une enzyme située majoritairement dans les chloroplastes et essentielle à la synthèse des acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) au niveau de tous les

organes (feuille, rhizome, bulbe) (Rainaud, 2013). Privée de ces acides aminés qui participent à la synthèse de beaucoup de métabolites : protéines, certaines hormones, vitamines et chlorophylles, la plante dépérit très rapidement après nécrose de ces tissus (Bouchet et Cocard, 2012 ; Rainaud, 2013). Cette voie métabolique n'existe pas chez les insectes, les poissons, les oiseaux et les mammifères y compris l'homme. Le mode d'action du glyphosate n'est donc pas applicable à ces espèces (Rainaud, 2013).

Les faibles concentrations de ce produit donnent de meilleurs résultats que les fortes concentrations quant à leur effet herbicide. En effet, appliqué à de fortes concentrations, le glyphosate tue les tissus avec lesquels il est en contact avant de pouvoir être transporté jusqu'à sa cible. De faibles concentrations vont par contre maintenir intactes les fonctions de transport interne au sein de la plante et lui permettre d'atteindre les racines (Rainaud, 2013).

Chez la plupart des végétaux, le glyphosate n'est que faiblement dégradé après absorption. Cette stabilité métabolique permet à la molécule de disposer de tout le temps nécessaire pour atteindre l'extrémité des racines et exercer son effet (Gauvrit, 1996 *in* Rainaud, 2013).

Le seul métabolite significatif du glyphosate chez les végétaux est l'acide aminométhyl-phosphonique (AMPA). Cette dégradation semble se produire par un processus peu connu (Ding *et al.*, 2011 *in* Smedbol, 2013). De façon générale, on retrouve donc classiquement dans les plantes traitées, une accumulation de glyphosate avec des traces plus ou moins importantes d'AMPA (Rainaud, 2013).

1-5-Les fongicides :

1-5-1-Définition :

Selon Odile (2008), les fongicides sont des pesticides qui tuent ou inhibent les champignons responsables de certaines maladies mais toutes les maladies fongiques ne sont pas contrôlables avec un fongicide, cas de certaines maladies vasculaires comme la fusariose Odile (2008).

1-5-2-Classification :

Plusieurs critères permettent de classer les fongicides. Selon la nature chimique, on distingue deux grands groupes de fongicides : les fongicides minéraux et les fongicides organiques qui sont majoritairement des produits de synthèse (Periquet *et al.*, 2004).

-Les fongicides minéraux sont à base de cuivre, de soufre et de permanganate de potassium (Periquet *et al.*, 2004).

-Les principaux fongicides organiques sont les carbamates, les dérivés du phénol, les dicarboximides, les phtalimides, les amides et amines, les inhibiteurs de la biosynthèse des stérols, les anilinopyrimidines, les méthoxyacrylate et fongicides apparentés (Periquet *et al.*, 2004).

Selon le mouvement des fongicides dans la plante, Odile (2008) distingue deux grands groupes :

-Les fongicides de surface (de contact) qui ne sont pas absorbés par la plante ; les gouttelettes s'étendent sur la feuille mais ne pénètrent pas dans la feuille. Les feuilles qui émergent après l'application ne sont donc pas protégées et le fongicide est lessivé par la pluie et parfois désactivé par le soleil.

-Les fongicides pénétrants qui sont absorbés par la plante, ils sont classés en trois catégories :

→ Systémique local ou translaminaire : les gouttelettes s'étendent sur la feuille et pénètrent dans celle-ci. Ces fongicides pénètrent dans la plante sous la cuticule au niveau du point de contact entre la plante et la gouttelette de fongicide, mais ne se déplacent pas dans la plante. Comme le fongicide ne se déplace que localement dans la plante, les feuilles qui émergent après l'application ne sont pas protégées mais le fongicide n'est pas lessivé par la pluie une fois pénétré dans la plante.

→ Systémique à diffusion ascendante (mobile dans le xylème, diffusion acropétale) : le fongicide appliqué dans le sol est alors absorbé par les racines et arrive à l'intérieur de la feuille par la sève. Il se déplace vers le haut de la plante (apex, point de croissance) avec la sève montante. Les feuilles qui émergent après l'application sont donc protégées et le fongicide ne peut pas être lessivé par la pluie.

→Systémique complète (diffusion ascendante et descendante, diffusion acropétale et basipétale) : les fongicides pénétrants complètement systémiques sont généralement appliqués sur le feuillage, mais peuvent également être appliqué dans le sol. Lorsque le fongicide est absorbé par la plante, il se déplace vers le haut (apex) et le bas (racine) de la plante avec les sèves montante et descendante. Les feuilles qui émergent après l'application sont donc protégées et le fongicide ne peut pas être lessivé par la pluie.

1-5-3-Modes d'action :

Selon Odile, 2008 il y a une multitude de modes d'action des fongicides. Ils peuvent affecter une ou plusieurs activités métaboliques du champignon. Les fongicides uni-sites qui agissent sur un seul site métabolique sont généralement efficaces seulement sur certains champignons, mais il est plus facile pour le champignon de développer de la résistance. D'autre part, les fongicides multi-sites qui agissent sur plusieurs sites métaboliques sont plus difficiles à contourner pour les champignons et le développement de résistance est rare.

Les fongicides peuvent altérer la membrane des cellules des champignons, désactiver des enzymes ou des protéines, interférer avec des processus de respiration ou de production d'énergie. Certains fongicides interfèrent avec des cycles métaboliques important pour la survie du champignon comme la production de stérol.

Certains fongicides ont un effet anti-sporulant en détruisant la reproduction du champignon suite à une infection.

Selon l'activité et le rôle du fongicide sur la croissance du champignon, ils peuvent avoir un :

- un effet préventif en détruisant le champignon avant que celui-ci ne pénètre dans la plante ; de tels champignons sont souvent appelés fongicides « anti-germinatif » (cas des fongicides de contact)
- avoir un effet curatif en détruisant le champignon après que celui-ci ait pénétré dans la plante.

1-5-4- Présentation du fongicide étudié : le Moncozèbe :

Le mancozèbe, de formule chimique $C_8H_{12}MnN_4S_8Zn$ est un fongicide de contact appartenant à la famille des carbamates et, plus précisément, un dithiocarbamate (Hadjeres, 2015). Il est composé de la combinaison de deux dithiocarbamates : l'éthylène-bis-dithiocarbamate de manganèse et de zinc ou manèbe et de l'éthylène-bis-dithiocarbamate de zinc ou zinèbe (Hadjeres, 2015), figure (2).

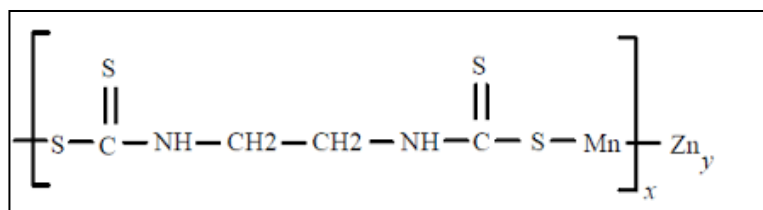


Figure 2 : Structure chimique du Moncozèbe (Gullino, 2010)

Le mancozèbe pur se présente sous forme de poudre grise à jaune. C'est un complexe polymérisé qui renferme, selon certaines sources, environ 20 % de manganèse pour 2,5 % de zinc (INRS, 2016).

Le mancozèbe est un composé stable dans un lieu de stockage sec. Il se décompose lentement sous l'effet de la chaleur, de l'humidité ou au contact d'acides. Par décomposition thermique, il libère des fumées et des gaz toxiques renfermant notamment des oxydes de soufre et d'azote, du sulfure d'hydrogène, des oxydes de manganèse et de zinc, du disulfure de carbone... (INRS, 2016).

Il est utilisé contre les maladies de la tache brune, le retard de sénescence, la population totale de mycoflore pour les cultures de pomme de terre, la tomate et la vigne (Akinbo *et al.*, 2006 ; Hadjeres, 2015), contre la maladie de l'Anthracnose et la rouille chez la fève, l'Oidium chez les pois et l'Anthracnose et la fusariose vasculaire chez le pois chiche (Bonnard *et al.*, 2010).

C'est un fongicide multi-sites qui tue les champignons selon plusieurs modes d'action : en inhibant la chaîne respiratoire mitochondriale, la synthèse des acides aminés et des stérols (constituants des membranes cellulaires), en perturbant la division cellulaire et en stimulant les défenses naturelles des plantes (Hadjeres, 2015). C'est également un anti-sporulant ne pénétrant pas sous la cuticule et protégeant les tubercules et jeunes feuilles non protégées (Roy, 2015).

1-6-Devenir des pesticides dans l'environnement:

Quel que soit le lieu d'application d'un pesticide, seule une partie de la quantité épandue atteint réellement la cible visée : herbe indésirable, insecte ravageur, champignon..., le reste du produit est diffusé dans les différents compartiments de l'environnement : air, sol, eau. (Tron *et al.*, 2001 in Marc, 2004). Lors du traitement des cultures, la majeure partie des quantités de pesticides apportées atteint le sol, soit parce que les pesticides y sont directement

appliqués, soit parce que la pluie a lessivé le feuillage des plantes traitées (cultures et/ou mauvaises herbes) (Barriuso *et al.*, 1996 *in* Mamy *et al.*, 2011).

L'évaluation de cette perte dans l'environnement est difficile. Elle diffère selon de nombreux facteurs : caractéristiques propres à la molécule, facteurs exogènes à la molécule (climat, sol d'application perméables ou imperméables...) et mode d'application (voie aérienne, pulvérisateur...) (Tron *et al.*, 2001 *in* Marc, 2004).

Selon Tadeo *et al.*, (2000) *in* Marc (2004) et Tron *et al.*, (2001) *in* Marc (2004), les pesticides peuvent (Figure 3) :

-dériver vers l'atmosphère avant même que le produit n'ait atteint le sol, phénomène accentué en période de grand vent ou dans le cas d'une application aérienne.

-atteindre le sol et ensuite :

→se volatiliser par évaporation de l'eau contaminée présente dans le sol ou être transporté vers l'atmosphère par les vents en même temps que des particules du sol.

→être emportés par ruissellement vers les eaux superficielles ou percoler vers les nappes phréatiques et atteindre les eaux marines.

→rester en solution dans l'eau contenue dans le sol où ils peuvent alors démarrer leur processus de biodégradation par les microorganismes du sol (Gresshoff *et al.*, 1979 *in* Huang *et al.*, 2011).

→une quantité subit une rétention dans les sols augmentant leur rémanence et pouvant être responsable d'effets non intentionnels (phytotoxicité sur les cultures suivantes, et sur la microflore et la microfaune du sol) (Narbonne, 1998 *in* Gueddou et Nedjaa, 2017).

-atteindre des animaux et/ou des plantes (non cibles) et être adsorbés par eux, stockés dans les graisses animales ou dans les tissus végétaux puis en partie rejetés (www.mce-info.org/pesticides.php,2003).

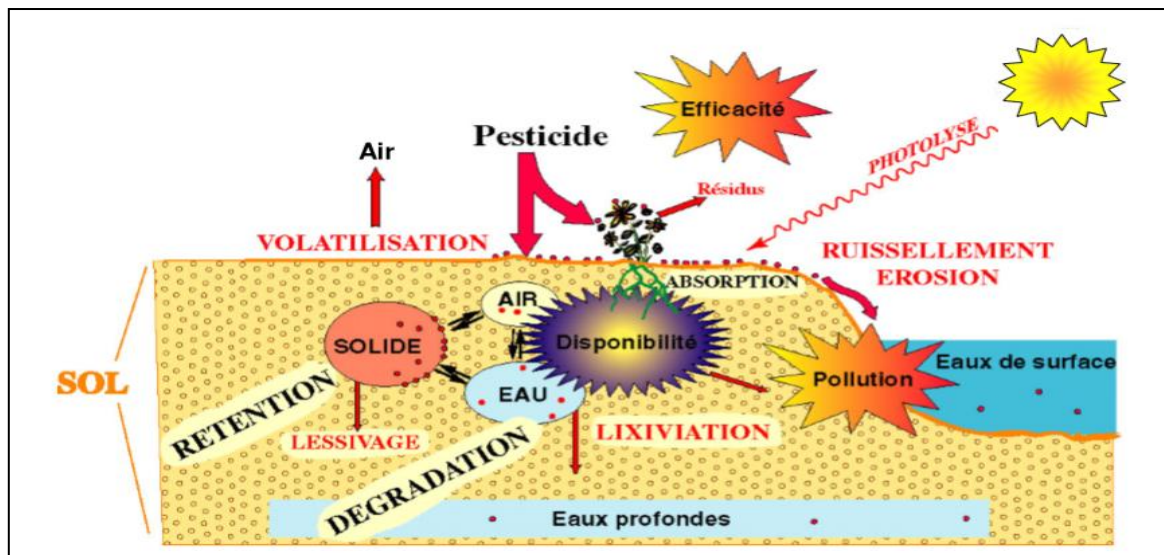


Figure 3 : Processus impliqués dans le devenir des pesticides dans les sols (Barriuso *et al.*, 1996 in Qasem, 2011)

1-7-Impacts des pesticides :

L'utilisation croissante des pesticides depuis un demi-siècle a eu des impacts délétères sur la santé de l'homme et l'environnement.

En effet, ces produits sont à priori dangereux de par leur vocation même : ce sont des molécules synthétisées pour altérer des mécanismes indispensables au développement ou à la survie d'organismes vivants. Bien qu'utilisés contre des organismes cibles particuliers, ils sont susceptibles d'exercer une activité toxique vis-à-vis d'autres organismes dits non-cibles (Rainaud, 2013).

Ainsi, les microorganismes aquatiques et terrestres, les invertébrés aquatiques et terrestres, les macrophytes et les plantes terrestres, les amphibiens, les poissons, les arthropodes, les oiseaux et les mammifères non ciblés, peuvent être exposés au glyphosate via différentes voies, par contact direct lors de l'application au champ, dans l'eau, dans le sol ou par le régime alimentaire (Smedbol, 2013).

1-7-1-Impact sur le sol:

Un sol fertile fournit les nutriments nécessaires pour promouvoir la croissance des plantes. Il constitue habitat d'une communauté active et de divers organismes, et présente une structure caractéristique du lieu qui permet la décomposition continue des résidus organiques (Mäder *et al.*, 2002 in Isenring, 2010).

La contamination des sols par différentes substances, dont les pesticides, a été reconnue comme l'une des principales menaces qui pèsent sur les sols européens (CEC, 2002 *in* Merhi, 2008).

Les pesticides affectent les vers de terre, les mycorhizes et d'autres organismes du sol et modifient la composition et l'activité des communautés bactériennes (Isenring, 2010).

L'activité de nourrissage des organismes du sol était plus importante dans les sols des vignobles biologiques que dans ceux des sites traités conventionnellement (Reinecke *et al.*, 2008 *in* Isenring, 2010). Le nombre de vers de terre était 1,3 à 3,2 fois supérieur dans les parcelles biologiques comparé aux parcelles conventionnelles, et la longueur des racines de plantes colonisées par les mycorhizes était 40 % plus élevé dans les systèmes biologiques que dans les conventionnels (Mäder *et al.*, 2002 *in* Isenring, 2010).

Certains herbicides (sulfonylurées, metsulfuron, chlorsulfuron), sont à l'origine d'une réduction de la croissance des bactéries du sol du genre *Pseudomonas* (Boldt et Jacobsen 2006 *in* Isenring, 2010). D'autres (bromoxynile) provoquent des changements majeurs dans la composition et la diversité des espèces dans les communautés bactériennes du sol et inhibent la croissance des bactéries capables de dégrader les produits chimiques dans le sol (Baxter *et al.*, 2008 *in* Isenring, 2010).

1-7-2-Impact sur végétaux :

Les herbicides totaux, parmi lesquels le glyphosate, détruisent toutes les plantes, les mauvaises herbes mais aussi les cultures (Mamy *et al.*, 2011).

Chez les végétaux, le glyphosate exerce un effet sur le métabolisme des acides aminés aromatiques (Wang, 2001; Dewick, 1998 *in* Smedbol, 2013) et provoque une diminution de l'absorption des macros et micronutriments (Zobiolo *et al.*, 2011 *in* Smedbol, 2013) et du contenu en chlorophylles (Zobiolo *et al.*, 2011 *in* Smedbol, 2013), une diminution du rendement photosynthétique (Wang, 2000; Zobiolo *et al.*, 2012 *in* Smedbol, 2013) et de la croissance (Tsui et Chu, 2003; Wong, 2000 *in* Smedbol, 2013).

Chez *Imperata cylindrica* L. (cogongrass ou Japgrass), une des dix espèces d'adventices les plus destructrices au monde, la photosynthèse, la fluorescence chlorophyllienne, les teneurs en chlorophylle a et b, et la teneur en acide shikimique ont

diminué ; cette diminution est proportionnelle à la concentration et au temps de traitement au glyphosate (Huang, 2011).

L'AMPA, métabolite du glyphosate chez les végétaux, est reconnu avoir des propriétés phytotoxiques, allant même jusqu'à affecter les plants de soja génétiquement modifié, ceux-ci étant résistants au glyphosate mais non à l'AMPA. Parmi les effets observés de l'AMPA, on note une diminution du contenu en chlorophylles et une réduction du poids frais des tiges de soja transgénique (Reddy *et al.*, 2004 in Smedbol, 2013).

L'utilisation inconsidérée de fongicides, potentiellement dangereux, constitue une menace sérieuse pour l'environnement. L'effet non ciblé des fongicides sur les organismes bénéfiques tels que les fixateurs d'azote, les antagonistes rhizosphériques et les mycorhizes est l'autre inconvénient de l'application de fongicides (Vyas, 1988 in Akinbo *et al.*, 2006).

1-7-3-Impact sur l'Homme :

Ces substances pouvant pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion (résidus dans les légumes, les fruits, etc.) et par inhalation. La grande variété de produits rend difficile l'évaluation des expositions des populations, qu'il s'agisse de la population exposée professionnellement (agriculteurs ou manipulateurs) ou de la population générale (Fagot et Larrat, 2002 in Merrouche *et al.*, 2016).

Les pesticides peuvent exercer, selon leurs doses, deux types de toxicité : aigue et chronique (Roy, 2015).

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), un million d'empoisonnements graves par les pesticides, à l'origine d'environ 220 000 décès par an sont recensés (Cherin *et al.*, 2012 in Gueddou et Nedjaa, 2017; Eddleston et Phillips, 2004 in marc, 2004).

Les effets chroniques concernent des pathologies variées et surviennent, pour la plupart, plusieurs années après l'exposition. Parmi ces pathologies chroniques les cancers de cerveau, de poumons, du foie, de l'estomac et la leucémie (Capkin, *et al.*, 2006), les perturbations endocriniennes responsables de la diminution des fertilités masculine et féminine et de malformations congénitales (Cupper *et al.*, 2000), les altérations des réponses immunitaires (Cupper *et al.*, 2000), les troubles et maladies neurologiques telle que la maladie de Parkinson (Cocco *et al.*, 1999).

L'évaluation des quantités de glyphosate présentes dans les urines des agriculteurs a révélé que 70 % d'entre eux ont une urine contaminée le jour de l'application du glyphosate (Lee *et al.*, 2000 in Marc, 2004). Il est un des pesticides les plus utilisés dans les cas de suicide par ingestion en Asie (Lee *et al.*, 2000 in Marc, 2004).

Une étude épidémiologique réalisée sur des femmes enceintes issues de population agricole a révélé que l'exposition au glyphosate pendant les trois mois précédents la conception ou pendant le premier trimestre de grossesse est associée à un risque élevé d'avortements spontanés tardifs (Arbuckle *et al.*, 2001 ; Marc, 2004).

Le produit de dégradation du glyphosate (AMPA) peut s'accumuler dans les sols et entraîner un impact sur la « population humaine » (Mamy *et al.*, 2011).

1-7-4-Impact sur les animaux :

Les pesticides affectent la faune sauvage directement et indirectement via les sources d'alimentation et les habitats (Isenring, 2010).

Pour 187 espèces d'oiseaux menacées dans le monde, la première cause de pression est la pollution chimique, comprenant les engrais, les pesticides et les métaux lourds (Berny *et al.*, 1997 in Gueddou et Nedjaa, 2017).

Les insecticides à large spectre peuvent provoquer le déclin de populations d'insectes bénéfiques tels que les abeilles, les araignées et les coléoptères (Gueddou et Nedjaa, 2017).

Les herbicides peuvent provoquer des changements de végétation et d'habitat qui menacent les mammifères (Berny *et al.*, 1997 in Gueddou et Nedjaa, 2017).

Les pesticides accumulés le long de la chaîne alimentaire, particulièrement les perturbateurs endocriniens, présentent un risque à long-terme pour les mammifères, les oiseaux, les amphibiens et les poissons (Isenring, 2010).

2-Présentation des espèces étudiées : la Gesse et le Trèfle

2-1- La Gesse commune (*Lathyrus sativus* L.) :

La gesse commune (*Lathyrus sativus* L.) est une légumineuse cultivée principalement en Inde, au Bangladesh et en Ethiopie qui présente des niveaux de résistance élevés pour de nombreuses contraintes abiotiques (Brunet, 2008).

2-1-1- Classification :

Le genre *Lathyrus* est le genre le plus large de la tribu des Fabeae (Lapeyronie, 1982 ; Kenicer *et al.*, 2005 *in* Malek, 2012). Il contient plus de 160 espèces dont *L. sativus* L. (Miyan *et al.*, 1997 *in* Malek, 2012).

Embranchement : Phanérogames

Sous-Embranchement : Angiospermes

Classe : Magnolipsida (Dicotylédones)

Sous-Classe : Rosidae

Ordre : Fabales

Famille : Fabaceae (légumineuses)

Sous-Famille : Papilionoideae

Tribu : Fabeae

Genre : *Lathyrus*

Espèce : *Lathyrus sativus* L.

(Brunet, 2008 *in* Malek, 2012).

2-1-2- Caractéristiques botaniques :

L'espèce *Lathyrus sativus* L. au nombre de chromosomes $2n = 14$, est une plante annuelle de 20-90 cm de hauteur (Hanson et Street, 2008).

Son système racinaire est pivotant avec peu de racines secondaires et beaucoup de nodosités qui sont des racines symbiotiques avec des bactéries du genre *Rhizobium* (Coste, 1983 *in* Malek, 2012). Il est profond et étendu permettant à la gesse d'accéder à l'eau profonde dans le sol même dans les terres arides (Jiao et Li, 2009 *in* Malek, 2012).

Ses tiges sont couchées ou grimpantes, et mesurent 15 à 60, rarement 100 cm, de long. Elles sont fortement ramifiées, s'étalant sur une largeur de 0,5 à 1,5 m

Les feuilles sont composées pennées, ayant généralement deux folioles en vrilles. Les folioles mesurent 2,5 à 15 cm de long, 3 à 7 mm de large, et sont au moins 3 fois plus longues que larges. Leur forme est linéaire-lancéolée à elliptique avec 5 à 7 nervures longitudinales minces distinctes. Les pétioles sont largement ailés (1 à 2,5 mm). Les stipules mesurent 10 à 20 mm de long et 2 à 5 mm de large (Hillocks et Maruthi, 2012).

Les fleurs zygomorphes sont solitaires, axillaires et portées par des pédoncules courts et minces (Campbell, 1997 *in* Malek, 2012). Elles sont de grandes tailles. Elles présentent une large gamme de couleurs allant du blanc au bleu vif, en passant par le rose (Hanson et Street, 2008).

Les fruits, typique des Fabacées, sont des gousses de 30-35 mm qui contiennent des graines appelées également gesse (Malek, 2012). Les gousses sont oblongues, plates et légèrement incurvées et portent trois à cinq graines de couleur brun grisâtre, généralement marbrées (Duke, 1981 *in* Hanson et Street, 2008) (Figure 4).



Figure 4: Planche descriptive de *Lathyrus sativus* (Curtis, 2006 *in* Malek, 2012)

2-1-3-Exigences culturales :

La gesse est une culture significative, en particulier dans les pays en développement mais également en Chine et dans de pays d'Europe (centrale, du sud et de l'Est), du Moyen-Orient et d'Afrique du Nord (Campbell, 1997 *in* Malek, 2012).

La gesse est une culture de saison hivernale adaptée aux zones arides ou semi-arides. La culture en est facile car la plante est peu exigeante sur la nature du sol ; elle a de faibles besoins en eau et en fertilisants. Elle pousse mieux à des températures moyennes situées entre 10 et 25° C avec une pluviométrie moyenne de 400-650 mm par an (Hillocks et Maruthi, 2012).

La culture subit une gamme de stress biotiques et abiotiques tels qu'un excès d'humidité ou un stress hydrique, qui réduisent le potentiel de rendement aussi le contrainte ainsi qu'une compétition avec les plantes adventices (Girish, 2016).

Les superficies cultivées de gesse en Algérie sont très limitées par rapport à celles des autres légumineuses et la gesse constitue la sixième espèce de légumineuses cultivées (Boukecha *et al.*, 2017). Ces superficies montrent une variation interannuelle remarquable (M.A.D.R, 2011 *in* Malek, 2012).

2-1-4-Intérêts économique et écologique :

Le genre *Lathyrus* inclut les cultures vivrières et fourragère, les plantes ornementales, les plantes nitrifiantes de sol, les plantes stabilisantes des dunes et présente aussi des organismes modèles pour la recherche génétique (Kenicer *et al.*, 2005 *in* Malek 2012).

La gesse est riche en protéines, acides gras insaturés et en anti-oxydants. Elle se consomme verte, comme un petit pois ou bien sèche, en farine, sous forme de purée (Hillocks et Maruthi, 2012). Elle est considérée comme l'une des sources d'amidon et de protéines les plus prometteuses pour les populations vastes et en expansion des régions d'Asie et d'Afrique sujettes à la sécheresse (Jiao *et al.*, 2011, VazPatto *et al.*, 2006 *in* Boukecha *et al.*, 2017).

Cependant, cette espèce possède une molécule toxique, une neurotoxine la β -N-oxalyl-L- α,β -diaminopropionique (β ODAP), également connue sous le nom de β -N-oxalyl-amino-L-alanine (BOAA), qui provoque, en cas de forte consommation (régime composé de plus de 25% de pois pendant 3-4 mois) une paralysie douloureuse et irréversible des jambes accompagnée de tremblements, d'incontinence appelé le lathyrisme (Hillocks et Maruthi, 2012).

Depuis les années 2000, diverses recherches sont conduites pour améliorer la gesse en réduisant notamment le taux de β ODAP, et pour comprendre son mécanisme d'adaptation à la sécheresse. En effet, elle est maintenant considérée comme une plante d'avenir car elle peut être produite dans des conditions climatiques moins exigeantes que les céréales (Jiao *et al.*, 2012).

Comme les autres légumineuses, la gesse améliore la fertilité des sols par augmentation de leurs teneurs en N, P et matière organique (Girish, 2016). Les espèces du genre *Lathyrus* améliorent les conditions physiques du sol, réduisent l'incidence des maladies

et éliminent les mauvaises herbes augmentant, ainsi, le taux de croissance des culture (Rubial *et al.*, 2009 ; Grela *et al.*, 2012). Et grâce à leurs systèmes racinaires, elles protègent les sols contre l'érosion (Grela *et al.*, 2012).

2-2- Le Trèfle renversé (*Trifolium resupinatum* L.) :

Les Trèfles sont des plantes herbacées de la famille des Fabaceae (Légumineuses), appartenant au genre *Trifolium*.

2-2-1- Classification :

Le genre *Trifolium* appartient à la famille des Fabaceae et à la sous-famille des Papilionidaea qui compte 250 espèces réparties à travers les zones tempérées et subtropicales (Mousset- Déclas, 1990).

Embranchement : Phanérogames

Sous-Embranchement : Angiospermes

Classe : Magnolipsida (Dicotylédones)

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Fabales

Famille : Fabaceae

Sous-Famille : Papilionidaea

Tribu : Trifolieae

Genre : *Trifolium*

Espèce : *Trifolium resupinatum* L.

Plusieurs variétés de trèfle renversé sont identifiées : deux de type Sauvage, 13 de type *Hollandicum* et 9 de type *Ladino* (Gayraud, 2005).

2-2-2-Caractéristiques botaniques :

Le trèfle renversé ou *Trifolium resupinatum* L. est une plante herbacée généralement de petite taille, rampante et annuelle (Gayraud, 2005) se multipliant non seulement par propagation des semences mais aussi par voie végétative (Suter *et al.*, 2016).

Elle possède un système racinaire pivotant présentant des nodosités formées avec des micro-organismes symbiotiques spécifiques du genre *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* qui captent l'Azote de l'air (Sprent 2001in Medoukali, 2016).

La tige principale reste droite et développe des ramifications rampantes. Ces tiges rampantes lui permettent de se régénérer rapidement après différents types d'impact, comme la fauche, l'herbivorie ou le piétinement, et de combler immédiatement les lacunes (Suter *et al.*, 2016).

Ses feuilles, composées, sont généralement à trois folioles (parfois quatre). Ces folioles sont presque toujours dentées, parfois maculées en leur centre.

L'inflorescence comporte de nombreuses fleurs groupées sous forme d'une grappe qui ressemble soit à un capitule en boule, soit à un épi, les pédoncules s'alignant en étages serrés le long de l'extrémité de la tige (Leslie, 2008).

La fleur, zygomorphe, est de couleur rose présentant une corolle avec un étendard renversé dès la floraison (corolle résupinée d'où son nom). Le calice est velu et ses dents sont très inégales.

Le fruit, est une gousse multiséminée à déhiscence longitudinale (Botineau, 2010).

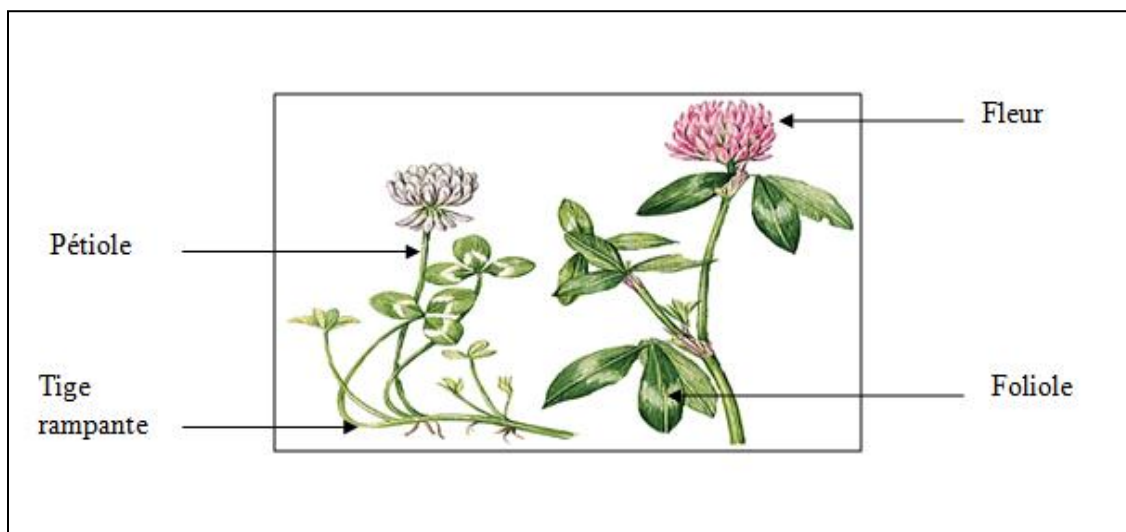


Figure 5 : Planche descriptive de *Trifolium resupinatum* L. (Jorquera, 2012 in Suter, 2013)

2-2-3-Exigences culturales :

Les sols idéaux pour le trèfle sont les sols frais, riches en éléments nutritifs. La déficience en azote minéral dans le sol constitue un facteur limitant de la croissance des plantes. Ce trèfle résiste mal aux fortes gelées et à la sécheresse (Suter *et al.*, 2016).

L'optimum de croissance du trèfle des types « Sauvage » et « Hollandicum » se situe entre 17 et 23° C. Pour le type « Ladino », cet optimum peut se situer entre 21° et 29° C (Gayraud, 2005).

Cette espèce présente une faible croissance dans les conditions salines, de chaleur ou de sécheresse (www.fsl.orst.edu/forages/oregon/enmain.cfm).

2-2-4-Intérêts économique et écologique :

Le trèfle est une des graines les plus riches en vitamines et sels minéraux (www.whperron.com).

Les espèces du genre *Trifolium* sont des espèces importantes pour l'amélioration de la production pastorale et/ou fourragère (pâturage) dans les zones tempérées vu leurs faibles coûts et leurs qualités nutritives (Medoukali, 2016). En effet, pour le cheptel, elles représentent une source d'alimentation riche en protéines, en fibres et en énergie. Elles sont à la base de la production de lait et de viande (Russelle 2001 in Medoukali, 2016).

La réduction biologique de l'azote atmosphérique N₂ en ammonium, ayant lieu dans les nodosités des légumineuses, fournit environ 65% de l'azote disponible dans la biosphère (Lodwig *et al.*, 2003 in Medoukali, 2016).

2-3-Les maladies des légumineuses :

De nombreux ravageurs et maladies peuvent s'attaquer aux cultures et aux stocks de légumineuses en particulier dans les zones tropicales humides (Gayraud, 2005).

De nombreuses maladies virales sont connues chez la gesse et le trèfle. Elles sont dues à de nombreux virus (mosaïques du trèfle blanc, virus à mosaïques jaune du trèfle blanc,) (Gayraud, 2005).

Certaines maladies sont provoquées par des mycoplasmes (Gayraud, 2005).

Les maladies fongiques sont nombreuses et plus dangereuses que les précédentes : elles provoquent une diminution de la qualité du fourrage récolté, et surtout elles peuvent entraîner une mortalité précoce des plantes. Les champignons causant les maladies les plus importantes sont : *Leptosphaerulina trifolii*, *Cercospora zebrina*, *Uromyces trifolii* (rouille), *Peronospora* (mildiou), *Sclerotinia* (Gayraud, 2005).

Les principales maladies de la gesse sont l'oïdium (*Erysiphe pisi*), le mildiou (*Peronospora* spp.), la rouille (*Uromyces fabae*) et la fusariose (*Fusarium oxysporum*) (Girish, 2016).

Les principales maladies du trèfle sont la sclérotiniose (*Sclerotinia trifoliorum*) (Michel *et al.*, 2010), la rouille et la drechslera (Suter *et al.*, 2016).

3-Utilisation des pesticides en Algérie :

En Algérie, selon Bouziani (2007), l'usage des insecticides, des fertilisants, des engrais et autres produits phytosanitaires (les pesticides) se répand de plus en plus avec le développement de l'agriculture, mais aussi dans le cadre des actions de lutte contre les vecteurs nuisibles.

Les traitements pesticides se font généralement pour parer à l'urgence, mais sans aucun souci des conséquences environnementales directes et des conséquences sanitaires à long terme liées aux infiltrations de ces substances non dégradables dans les sols, les sources et les nappes atteignant les végétaux, les animaux et nécessairement l'homme (Gueddou et Nedjaa, 2017).

L'Algérie importe en moyenne 8827 tonnes de pesticides pour un coût estimé à près de 4 milliards et demi de dinars par an (Anonyme, 2006 *in* Gueddou et Nedjaa, 2017).

Les pyréthriinoïdes, les organophosphorés et les carbamates (les composants principaux des herbicides et des fongicides) sont les pesticides les plus utilisés en Algérie (Mokhtati, 2012).



***Chapitre II : Matériels et
méthodes***

1-Provenances des graines :

1-1-La Gesse :

Les graines de Gesse (*Lathyrus sativus*) proviennent de la récolte de juin 2017, effectuée dans la région de Timizart, commune de Timizart, Daïra de Ouaguenoun dans la wilaya de Tizi-Ouzou. Ces graines n'ont pas subis de traitement pesticide après leur récolte. Elles étaient stockées à températures ambiante.

1-2-Le Trèfle :

Les graines de Trèfle (*Trifolium resupinatum*) ont été achetées du marché, à Tizi-Ouzou. Elles n'avaient, également pas subi de traitement pesticide au moment de l'achat.

2-Les pesticides utilisés :

Nous avons évalué l'influence de deux pesticides, un herbicide et un fongicide, utilisés en Algérie, sur les deux espèces précitées.

2-1-Le Glyphosate :

Le Glyphosate, l'herbicide le plus utilisé dans le monde, est vendu sous forme d'une solution concentrée de 360g/l de marque GLYFOZELL (produit par CASEP, Espagne).

2-2-Le Moncozèbe :

Le Mancozèbe est un fongicide qui se présente sous forme d'une poudre d'une concentration de 80% de Mancozèbe, de marque MANCOTOP (produit par SARL SAPHYTO, France).

3-Etude de l'influence du Glyphosate et du Moncozèbe sur la Gesse et le

Trèfle dans les boites Pétri :

3-1-Traitement par le Glyphosate et le Moncozèbe :

Nous avons utilisé deux concentrations de Glyphosate et de Moncozèbe: la dose prescrite par les fabricants et le double de la dose prescrite.

Nous avons convertis la dose prescrite par hectare à la dose nécessaire pour chaque boite de Pétri après avoir calculé la surface de la boite de Pétri qui est égale à 0.0063585m². Ainsi, nous avons déterminé les quantités suivantes par boite de Pétri pour chaque pesticide utilisé.

-Le Glyphosate :

→pour la dose prescrite (2l/ha) il faut 1.3µl/boite de Pétri

→pour la double dose (4l/ha) il faut 2.6µl/boite de Pétri

-Le Moncozèbe :

→pour la dose prescrite (3.5kg/ha) il faut 0.002225475g/boite de Pétri

→pour la double dose (7kg/ha) il faut 0.00445095g/boite de Pétri

Ces quantités sont ajoutées à 40ml d'eau distillée nécessaires pour une boite de Pétri.

Nous avons mis dans chaque boite de Pétri du papier filtre d'une épaisseur de 2 mm. Nous avons ensuite imbibé ce papier avec 40 ml d'eau distillée contenant ou non le pesticide.

3-2 Mise en germination :

Nous avons mis à germer cinq lots de boites/espèce (Gesse et Trèfle) :

-un lot témoin où les boites ont été imbibées avec uniquement de l'eau distillée.

-un lot de boites traitées par le Glyphosate à dose prescrite (1,3µl dans 40ml d'eau distillée/boite) (Gly1).

-un lot de boites traitées par le double de la dose prescrite de Glyphosate (2,6µl dans 40ml d'eau distillée/boite) (Gly2).

-un lot de boites traitées par le Mancozèbe à dose prescrite (0.002225475g dans 40ml d'eau distillée/boite) (Man1).

-un lot de boites traitées par le double de la dose prescrite de Mancozèbe à (0.00445095g dans 40ml d'eau distillée/boite) (Man2).

Le nombre de graines étalées par boite de Pétri est de 30 graines pour le trèfle et de 20 graines pour la gesse.

Nous avons utilisé quatre répétitions/dose/pesticide/espèce.

Les boites sont incubées le 18/12/2017, à l'étuve à 20±2°C. L'arrosage des boites de Pétri témoin et traitées est régulièrement effectué avec de l'eau distillée.

Les boîtes sont retirées de l'étuve dès que les plantes sont bien développées et laissées sur la paillasse à température ambiante variant entre 10 et 15°C.

3-3-Détermination des taux de germination :

Le comptage des graines germées a été effectué à partir du 1^{er} jour après la mise en germination (19/12/2017). Nous considérons qu'une graine a germé dès que la radicule a percé le tégument suivant la définition physiologique (Mazliak, 1984).

Nous avons calculé le taux de germination selon la formule suivante :

$$TG = \frac{n}{N} 100$$

n : Nombre des graines germées.

N : Nombre des graines dans la boîte.

3-4-Evaluation de la croissance :

L'effet des deux pesticides sur la croissance a été évalué par la détermination des poids secs des plantules.

Ainsi, après trois semaines, nous avons séché les plantules des différents lots (témoin, Gly1, Gly2, Man1, Man2) des deux espèces (Gesse et Trèfle) à l'étuve à 60±5°C jusqu'à obtention du poids constant pour déterminer les poids secs des plantules.

3-5-Détermination de la teneur en eau :

Après trois semaines de la mise en germination, les plantules ont été pesées à l'état frais puis mises à l'étuve à 60±5°C jusqu'à obtention du poids sec constant. La teneur en eau des plantules des différents lots (témoin, Gly1, Gly2, Man1, Man2) des deux espèces (Gesse et Trèfle) a été calculée selon la formule suivante :

$$TE = \frac{PF - PS}{PF} \times 100$$

PF : Poids frais.

PS : Poids sec.

4-Etude de l'influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur la Gesse dans le substrat :

4-1- Le substrat utilisé :

Nous avons utilisé le sol de Bastos car nous avons noté la présence de légumineuses (*Hedysarum*, *Trifolium*) sur ce sol. Il a été prélevé le 19/12/2017 puis il a été étalé au laboratoire pour le séchage avant d'être tamisé. Le substrat utilisé est un mélange de ce sol tamisé (2/3) et de sable lavé (1/3).

4-2-Etude des caractéristiques du sol :

4-2-1-Le pH :

Nous avons utilisé le protocole de Mathieu et Pieltain (2003). Nous avons préparé des extraits de sol dans un rapport 2,5/5 dans de l'eau distillée (20g de sol dans 50ml d'eau distillée). La détermination du pH a, ensuite, été effectuée deux heures après agitation pendant une minute avec une baguette en verre à l'aide d'un pH mètre de marque HANNA instruments HI 2210 pH mètre. Nous avons réalisé quatre répétitions.

4-2-2-La Conductivité électrique:

Nous avons, également, utilisé le protocole de Mathieu et Pieltain (2003). Nous avons préparé des extraits de sol dans un rapport 1/5 dans de l'eau distillée (50g de sol dans 250ml d'eau distillée). Ces extraits sont agités pendant deux heures puis laissés reposer. La détermination de la conductivité a, ensuite, été effectuée à l'aide d'un conductimètre de la marque Messgerat WTW dans le surnageant constitué après repos. Nous avons réalisé quatre répétitions.

La conductivité du sol a, ensuite, été calculé selon la formule suivante (Mathieu et Pieltain, 2003) :

La conductivité électrique = la valeur lue × constante de la cellule × chiffre de correction

Constante de la cellule= $C_{EsKCl} 0,01N (=0.0014118) / C_{EmKCl} \text{ à } 0,01N$

CEs : conductivité électrique standard d'une solution de KCl 0, 01N (=0.0014118)

C_{Em} : conductivité électrique mesurée d'une solution de KCl à 0,01N (en même temps que l'extrait)

Le chiffre de correction est utilisé selon la température de l'extrait (21°C).

4-3-Le traitement du substrat avec le Glyphosate et le Mancozèbe :

Nous avons utilisé le Glyphosate et le Mancozèbe aux mêmes doses que celles utilisées dans les boîtes de Pétri (la dose prescrite et le double de la dose prescrite). Nous avons calculé les quantités nécessaires par pot utilisé (8 cm de diamètre et 9 cm de profondeur) qui est d'une superficie de 0.00785m². Nous avons mis la même quantité de sol par pot.

→Glyphosate :

-pour la dose prescrite (2 l/ha) il faut 3,14µl/ pot

-pour la double dose (4 l/ha) il faut 6,3 µl/ pot

→Le Mancozèbe :

-pour la dose prescrite (3.5 kg/ha): 2,75mg/ pot

-pour la double dose (7 kg/ha) : 5,5mg/ pot

Chaque pot a été traité avec 100ml d'eau distillée contenant la quantité nécessaire de pesticide calculée par pot. Le traitement a été réalisé le 22/02/2018.

Nous avons constitué cinq lots (ou traitement) de pots : Témoin, Gly1, Gly2, Man1, Man2 à raison de 16 pots /lot. Nous avons, ensuite, réalisé un dispositif expérimental de quatre blocs servant de répétition chacun où sont mélangés des pots appartenant aux cinq traitements.

4-4-Mise en germination :

Une semaine après traitement (1^{er} mars 2018), nous avons mis dans chaque pot cinq graines de Gesse à une profondeur de 3cm. Les pots sont disposés sur les paillasses à côté des fenêtres pour qu'ils reçoivent suffisamment de lumière. L'arrosage est effectué tous les deux jours avec l'eau de robinet.

Pour le maintien des plantules droites dans les pots, nous avons utilisé des tuteurs dès le 25^{ème} jour après semis.

4-5- Etude de l'influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur le taux de levée :

Les taux de levée ont été calculés quotidiennement pour les cinq traitements par la formule suivante :

Taux de levée (%)= Nombre de plantules obtenues/ Nombre de graines seméesX100

4-6- Etude de l'influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur la croissance :

Après deux mois (1^{er} juin 2018) de la mise en germination et afin d'évaluer l'effet des pesticides utilisés sur la croissance, nous avons mesuré plusieurs paramètres morphologiques :

- Poids sec des systèmes racinaires (g)
- Poids sec des systèmes aériens (g)
- Poids sec de la biomasse foliaire (g)
- Le nombre de fleurs
- Le nombre de gousses
- Le nombre de nodules

Les poids secs ont été déterminés, après passage des plantules à l'étuve à 65±2°C pendant trois jours jusqu'à obtention des poids constants.

Pour ces paramètres morphologiques, le nombre de répétitions est de 10 plants/Traitement.

4-7- Etude de l'influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur la teneur en eau :

Nous avons déterminé la teneur en eau au niveau des feuilles et des systèmes aérien et racinaire.

Après deux mois de la mise en germination, des feuilles (trois feuilles/plant et 4plants/traitements), des systèmes aériens et racinaires (10 plants/traitements) ont été pesés à l'état frais puis mis à l'étuve à 65±2°C jusqu'à obtention du poids sec constant. Les teneurs en eau des feuilles, des systèmes aériens et racinaires des différents lots (Témoin, Gly1, Gly2, Man1, Man2) ont été calculées selon la formule précédemment citée (§ 3-5).

4-8- Etude de l'influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur la teneur en pigments (chlorophylles et caroténoïdes) :

Nous avons adopté le protocole de Lichtenthaler et Buschmann (2001). L'extrait de chlorophylles a été préparé par broyage de 0,1g de feuilles dans 10ml d'acétone à 80%, à l'obscurité. Cet extrait a, ensuite, été centrifugé dans une centrifugeuse réfrigérée à 4°C pendant 10mn à 3000 tours/mn. Les densités optiques (DO) du surnageant, ajusté à 10ml avec de l'acétone à 80%, obtenu sont lues aux longueurs d'onde de 447nm, 647nm et 663nm à l'aide d'un spectrophotomètre (marque UV mini-1240 UV-VIS SPECTRORHTOMETER SHIMAZU). Les taux de pigments sont, ensuite, déterminés selon les formules suivantes :

$$\text{Chla} = 12.25 \times A_{663} - 2.79 \times A_{647}$$

$$\text{Chlb} = 21.50 \times A_{647} - 5.10 \times A_{663}$$

$$\text{Chlorophylle a+b} = 7.15 * \text{DO } 663\text{nm} + 18.71 * \text{DO } 647 \text{ nm}$$

$$\text{Car T} = 1000 \times A_{470} - 1.82 \times \text{Chla} - 85.02 \times \text{Chlb}$$

Nous avons réalisé quatre répétitions/traitement.

4-9-Etude de l'influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur la teneur en sucres solubles:

Nous avons adopté la méthode de Cerning-Berorard (1975) qui se déroule en deux étapes : extraction puis dosage après coloration.

-L'extraction se fait par broyage d'un g de feuilles fraîches dans 10ml d'Ethanol à 80% suivie de trois centrifugations successives la première à 5000 puis deux fois à 3000 tours /mn.

-La coloration se fait sur un volume de 0,5ml d'extrait préparé dilué avec 0,5ml d'eau distillée avec 2ml de réactif à l'anthrone (Annexe), à chaud dans un bain Marie à 100°C, pendant 7mn. La densité optique de l'extrait coloré est déterminée au spectrophotomètre (UV mini-1240 UV-VIS SPECTRORHTOMETER SHIMAZU) après refroidissement des tubes à 630nm.

Nous avons réalisé quatre répétitions/traitement.

Les teneurs en sucres solubles ont été déterminées en utilisant une courbe étalon de glucose. Parallèlement à la préparation des échantillons (témoin et traités), nous avons

préparé une gamme de concentrations de glucose (5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60 µg/ml). La lecture des densités optiques (DO) de ces solutions à 630 nm nous a permis de tracer la courbe étalon du glucose (Figure 6) et donc de calculer, à l'aide de l'équation obtenue ($y = 0,038x - 0,042$) acceptée ($R^2 > 0,95$), les teneurs en sucres solubles des différents extraits.

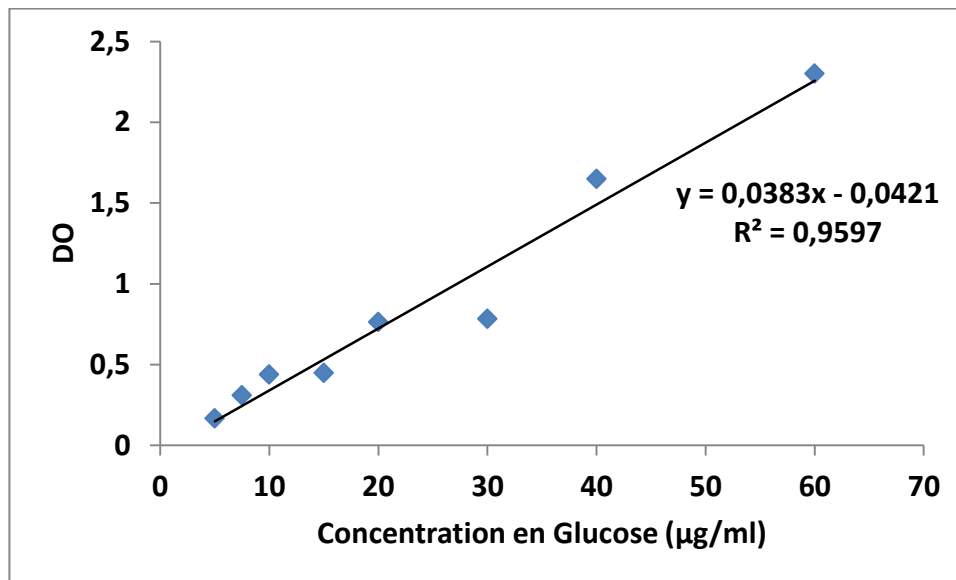


Figure 6 : Courbe étalon du glucose

5-Analyse statistique :

Tous les résultats obtenus ont été étudiés statistiquement à l'aide du logiciel R. En cas de conformité des résultats à la loi normale, une analyse de la variance ANOVA à un ou deux facteurs a été effectuée suivie d'un test post-hoc de Newmann-Keuls si les différences sont significatives. Sinon une analyse par les tests de Kruskal-Walis ou Mann-Whitney est réalisée suivis par un test post-hoc de Newmann-Keuls pour le classement des groupes.



***Chapitre III : Résultats et
discussion***

1-Influence du Glyphosate et du Moncozèbe sur la Gesse et le Trèfle dans les boîtes de Pétri :

1-1-Effet sur la germination :

L'observation des courbes représentant les taux de germination en fonction du temps de la Gesse et du Trèfle, montre l'existence chez les deux espèces, indépendamment du traitement, de deux phases: une phase exponentielle qui démarre à partir du premier jour (pas de phase de latence) et une phase stable (Figures 7 et 8).

Les durées de la phase exponentielle montrent des différences entre les deux espèces et entre les différents traitements. Elle est plus courte chez le trèfle témoin (2jours) que chez la gesse témoin (5 jours). Cette durée est réduite par les différents traitements effectués chez la Gesse (2jours). Chez le trèfle, cette durée est augmentée par le Glyphosate aux deux doses appliquées (Gly 1 et Gly 2) alors qu'elle n'est pas affectée par le Mancozèbe. Mais selon l'ANOVA à deux facteurs, ces différences ne sont pas significatives ni pour le traitement ni pour l'espèce ($p\text{-value}>0.05$).

Chez les deux espèces (Gesse et Trèfle), les taux de germination obtenus, au cours du temps, du premier au 12^{ème} jour, ne diffèrent pas d'une manière significative entre les témoins et les traités aux pesticides selon le test de Kruskal Wallis ($p\text{-value}>0.05$) (Tableau 3). Ces taux ont atteint 100%, après un temps variable (6 à 9jours), chez les deux espèces quel que soit le traitement effectué (Figures 7 et 8).

Après cinq jours de germination ; la plupart des lots de graines de Trèfle (T, Man1 Man2) et Gesse (Gly1, Gly2, Man1 et Man2) ont atteint 100% de germination (Figure 9).

Tableaux 3: Taux de germination obtenus dans les boîtes de Pétri, au cours du temps, chez *Lathyrus sativus* et *Trifolium resupinatum*, témoins et traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly 1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2)

Traite ment Temps (jours)	Gesse					Trèfle				
	T	Gly1	Gly2	Man1	Man2	T	Gly1	Gly2	Man1	Man 2
1	5±4,08	11.25±4,78	12.5±6,45	13.75±8,53	13.75±6,29	64.16±5,96	78.33±5,77	81.66±10	77.49±5,69	69.16±5,69
2	91,25±2.5	96.25±4.78	94.86±5.93	93.75±4.78	92.36±2.73	94.16±3.18	92.5±9.57	95.83±6.31	98.33±3.33	95.83±3.16
5	98.75±2.5	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	99.10±1,79	98.21±3,57	100±0	100±0
6	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	98.21±3,57	100±0	100±0
8	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	98.21±3,57	100±0	100±0
9	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	98.21±3,57	100±0	100±0
12	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0

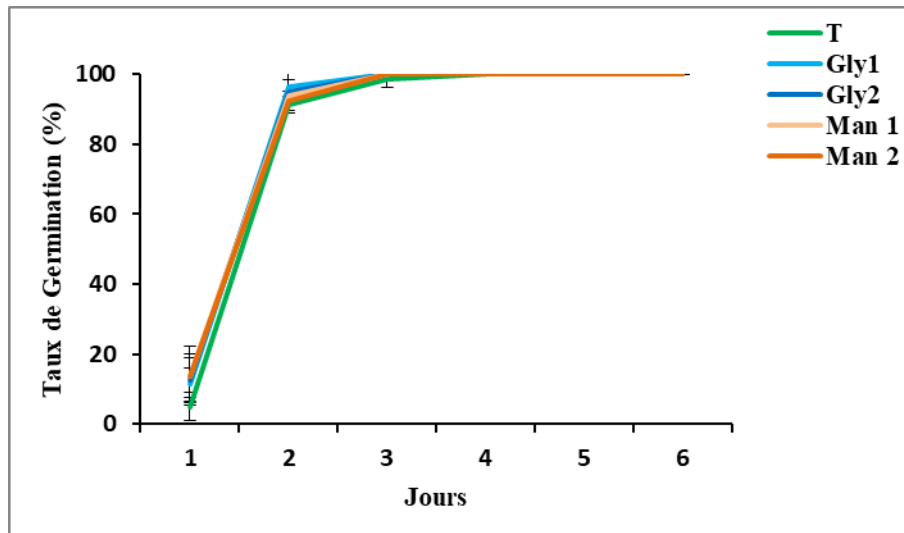


Figure 7: Evolution des taux de germination, dans les boites de Pétri, au cours du temps, de *L. sativus* témoin (T) et traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrite (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2)

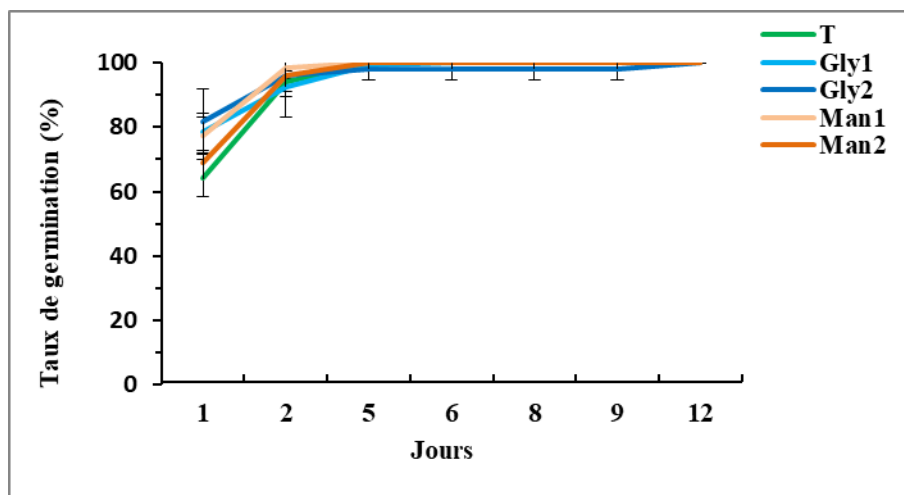


Figure 8: Evolution des taux de germination, dans les boites de Pétri, au cours du temps, de *Trifolium resupinatum*, témoin(T) et traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2)

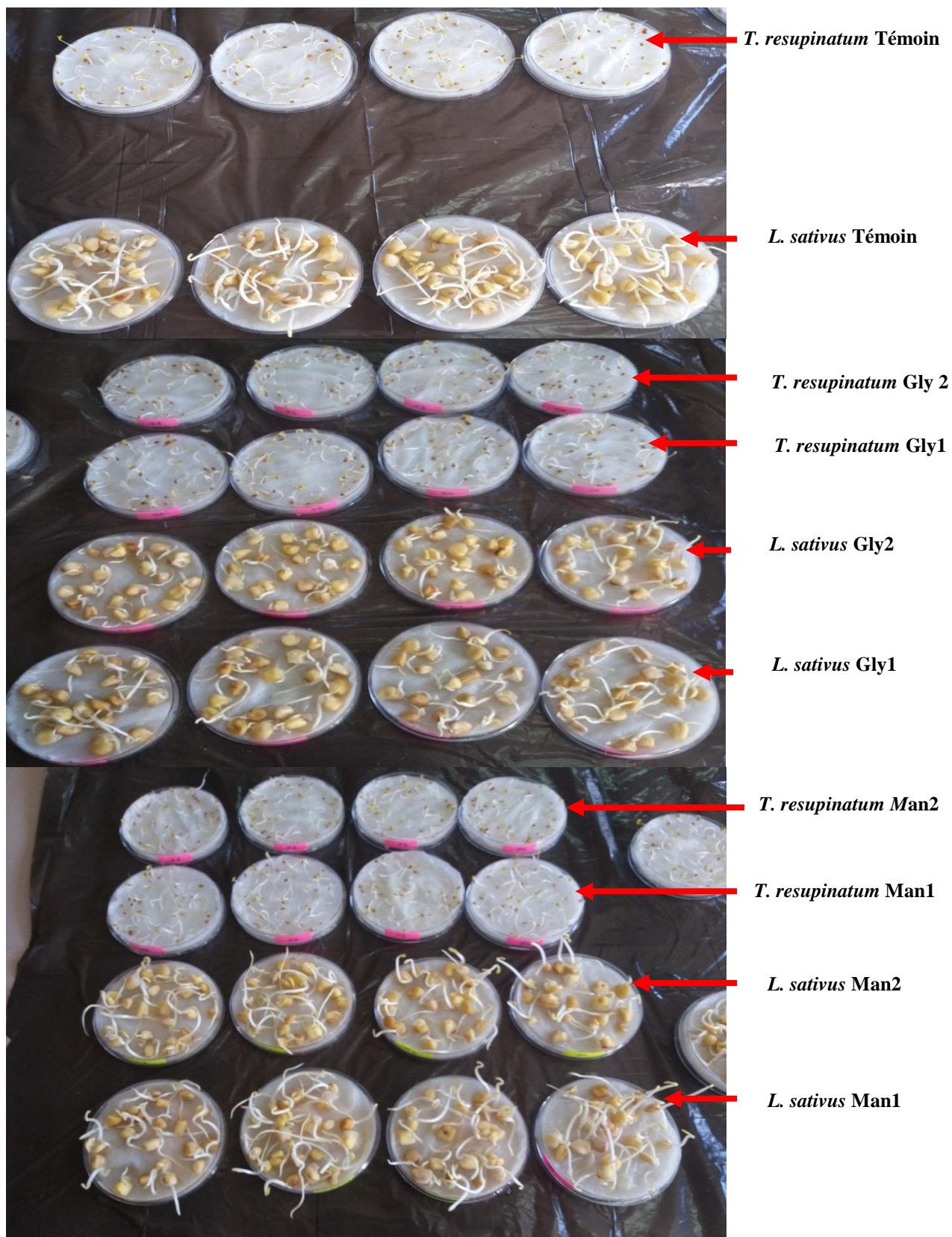


Figure 9 : Graines de *T. resupinatum* et *L. sativus* témoins et traitées au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly 1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2), après 5 jours de germination dans les boîtes de Pétri

Donc, le Glyphosate et le Mancozèbe aux doses prescrites et aux doubles des doses prescrites n'ont pas d'effet sur la germination de la Gesse et du Trèfle dans les boîtes de Pétri.

1-2-Effet sur la croissance :

L'effet sur la croissance a été évalué par la détermination de la biomasse sèche des plantules après trois semaines de la mise en germination.

Nous constatons que la croissance est plus importante chez la gesse que chez le Trèfle. Le test de Kruskal Wallis montre que cette différence entre les deux espèces est significative ($p < 0,05$) (Figures 10 et 11).

Les différences de croissances constatées entre les traitements, analysées par le test de Kruskal Wallis, sont statistiquement significatives chez les deux espèces.

Chez la Gesse, le Glyphosate a eu un effet négatif alors que le Mancozèbe n'a pas eu d'effet sur le poids des plantules ; les lots Témoin et Man 1 et Man 2 sont classés dans le groupe a alors que les lots Gly 1 et Gly 2 sont classés dans le groupe b (Figures 10 et 12).

Chez le Trèfle, le Glyphosate et le Mancozèbe n'ont pas un effet sur le poids sec des plantules, tous les traitements appliqués sont classés dans le même groupe (Figures 11 et 12).

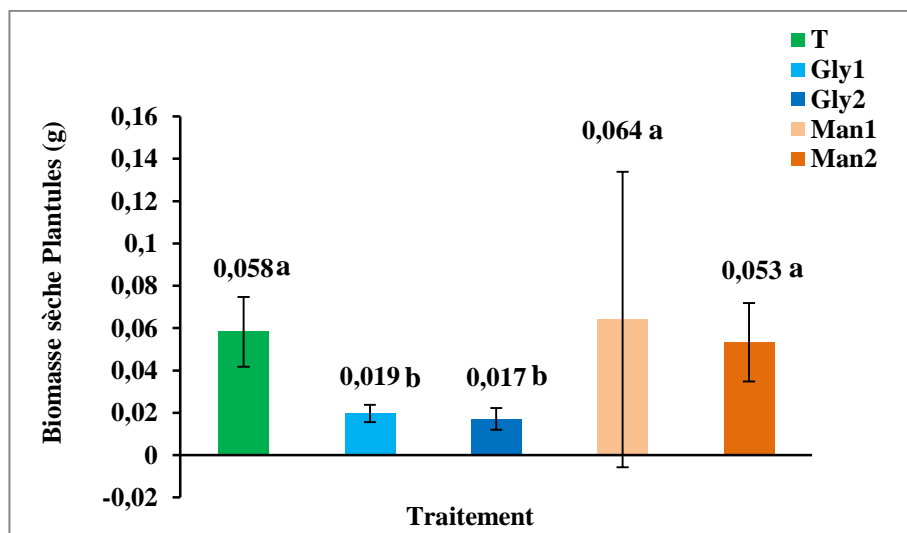


Figure 10: Biomasses sèches des plantules de *L. sativus*, témoin et traitées au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2), dans les boîtes de Pétri, après 20 jours,

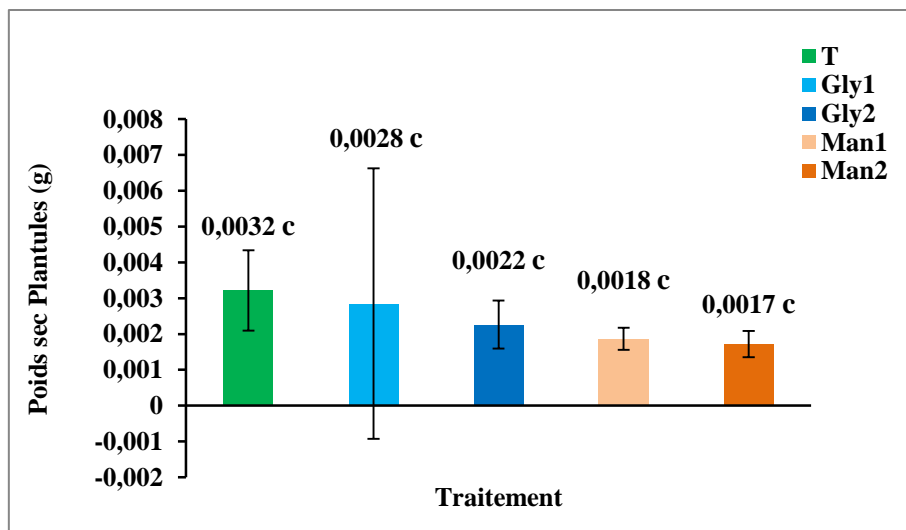


Figure 11: Biomasses sèches des plantules de *T. resupinatum*, témoin et traitées au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2), dans les boîtes de Pétri, après 20 jours,

Donc, le Glyphosate aux deux doses testées inhibe la croissance de la gesse mais n'a aucun effet sur celle du trèfle et le Mancozèbe n'a pas eu d'effet chez les deux espèces.

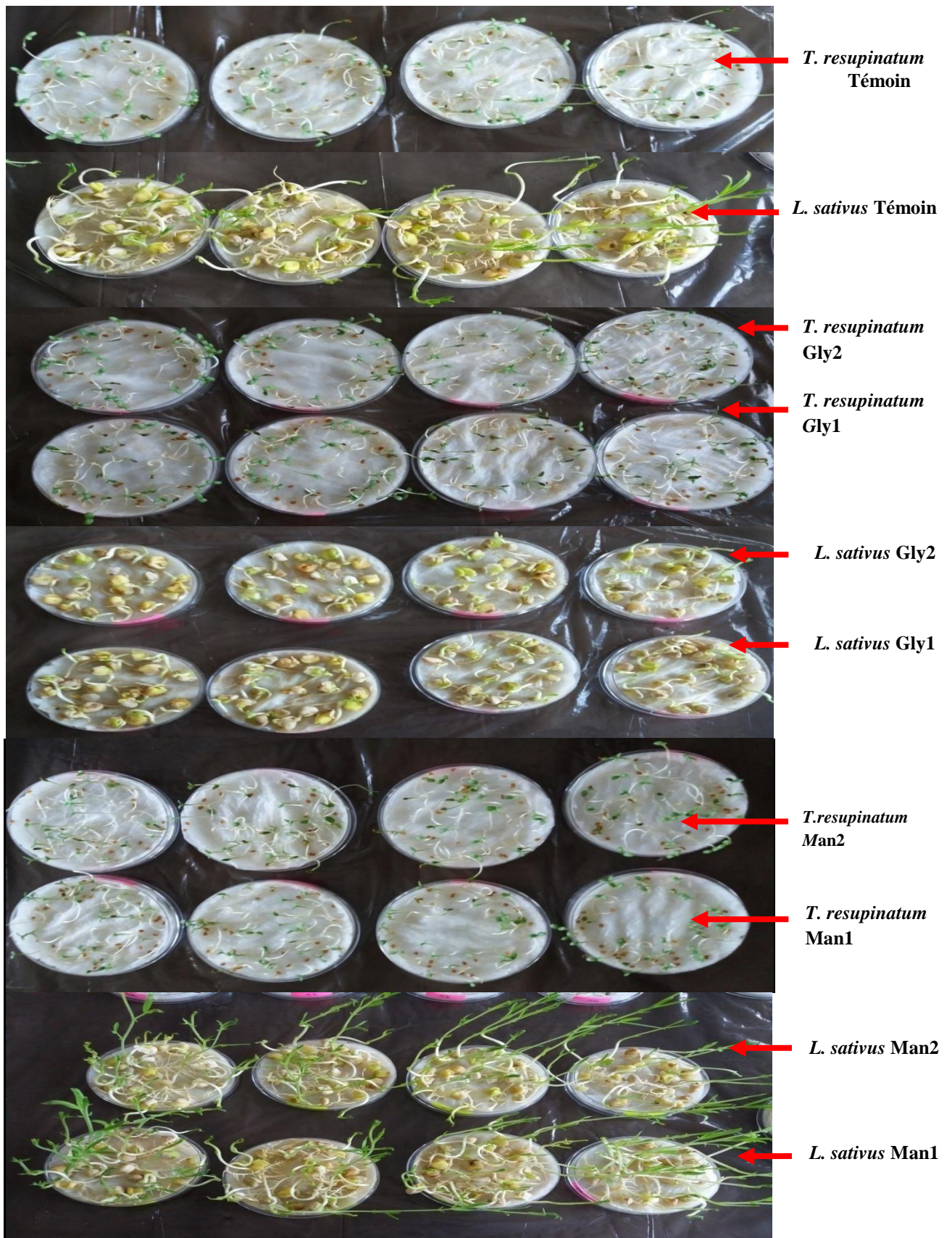


Figure 12: Plantules de *T. resupinatum* et *L. sativus* témoins et traitées au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2), après 12 jours de germination dans les boîtes de Pétri

1-3-Effet sur teneur en eau des plantules:

Les teneurs en eau des plantules, après trois semaines de la mise en germination, sont plus élevées chez le Trèfle (>90%) que chez la Gesse (entre 75% et 90% selon le traitement). Ces teneurs sont affectées par le traitement pesticide, chez les deux espèces.

Le test de Kruskal Wallis a montré que la teneur en eau est influencée par l'espèce et par le traitement pesticide ($p < 0,05$) (Figures 13 et 14).

Le mancozèbe a exercé le même effet chez les deux espèces, il a augmenté la teneur en eau des plantules et cette augmentation est plus importante avec la dose prescrite (Man 1).

Le Glyphosate, contrairement au Mancozèbe a eu un effet négatif sur la teneur en eau des plantules de la Gesse et la diminution provoquée est plus importante à faible dose (Gly1) qu'à forte dose (Gly2). Chez le Trèfle l'effet exercé par ce pesticide dépend de la concentration, il a légèrement réduit la teneur en eau à faible dose et ne l'a pas modifiée à dose élevée (Figures 13 et 14).

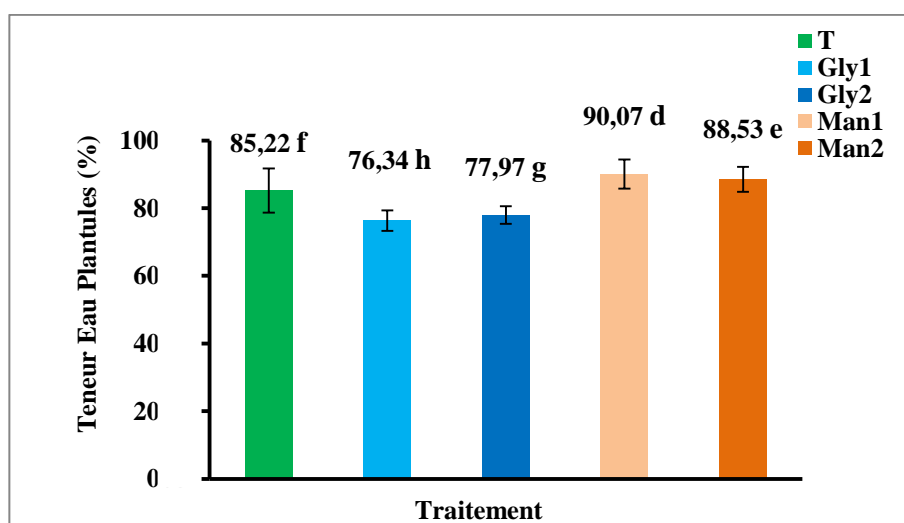


Figure 13: Teneurs en eaux des plantules de *L. sativus* témoin et traitées au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2), dans les boîtes de Pétri, après trois semaines

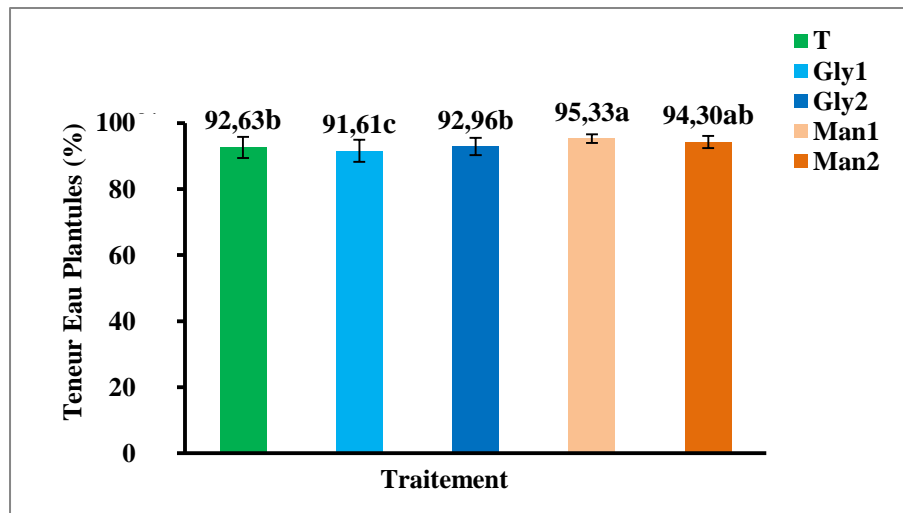


Figure 14: Teneurs en eau des plantules de *T. resupinatum* témoin et traitées au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), dans les boîtes de Pétri, après trois semaines

Donc, les réponses de la Gesse et du Trèfle aux deux pesticides appliqués sont globalement identiques, le Mancozèbe à un effet positif alors que le Glyphosate a un effet négatif sauf chez le Trèfle à double dose a eu un effet neutre.

1-4-Comparaison des résultats obtenus chez la Gesse et le Trèfle dans les boîtes de Pétri :

Nous remarquons que les comportements des deux espèces ne sont pas toujours identiques face au Glyphosate et au Mancozèbe (Tableau 4) :

- La germination n'est pas affectée par les deux pesticides chez les deux espèces
- Le Glyphosate (Gly 1 et Gly 2) a eu un effet négatif sur la croissance de la Gesse seulement et le Mancozèbe n'a eu aucun effet chez les deux espèces
- Le mancozèbe a eu le même effet positif sur la teneur en eau chez les deux espèces et l'augmentation est plus importante à faible dose.
- Le Glyphosate a eu un effet négatif sur la teneur en eau chez la Gesse alors que chez le trèfle, l'effet négatif est enregistré seulement à faible dose, à forte dose il n'a pas eu d'effet.

Tableau 4 : Récapitulation des effets du Glyphosate et du Mancozèbe obtenus chez la Gesse et le Trèfle

Espèce	Gesse				Trèfle			
	Glyphosate		Mancozèbe		Glyphosate		Mancozèbe	
	Gly1	Gly2	Man1	Man2	Gly1	Gly2	Man1	Man2
Taux de germination	0	0	0	0	0	0	0	0
Croissance	-	-	0	0	0	0	0	0
Teneur en eau	--	-	++	+	-	0	++	+

+ : Effet positif
 - : Effet négatif
 0 : pas d'effet

2- Influence du Glyphosate et du Mancozèbe sur la Gesse sur substrat :

2-1- Caractéristiques du sol utilisé:

Le sol que nous avons utilisé présente un pH alcalin de 8.12 ± 0.02 , selon l'échelle de Mathieu et Pieltain (2005). C'est un sol non salé car sa conductivité électrique est de $284,57 \pm 48,47$ (Mathieu et Pieltain, 2005). (Tableau 5)

Tableau 5 : Caractéristiques du sol de Bastos utilisé

pH (2/5)	Conductivité (1/5) ($\mu\text{mhos/cm}$)
8.12 ± 0.02	$284,57 \pm 48,47$

Les caractéristiques du sol de Bastos (pH et conductivité) ainsi que la présence de légumineuses (*Hedysarum*, *Trifolium*) sur ce sol nous a permis de le choisir comme substrat de culture pour la gesse.

2-2- Effet sur le taux de levée :

L'observation des courbes représentant les taux de levée de la Gesse, en fonction du temps, montre l'existence chez le témoin et les traités, de trois phases (Tableau 6 et Figure 15) :

- une phase de latence, de six jours, chez tous les lots témoin et traités
- une phase exponentielle d'une durée variable selon le traitement, elle est longue chez le témoin, Gly 2 et Man1 (18 jours), elle est de 11 jours pour Gly1 et Man 2. Cependant, selon le test statistique ANOVA à un facteur le traitement n'a pas d'effet sur cette durée (p-value>0.05).
- une phase constante stable

Les taux de levées, au cours du temps (du premier au 18^{ème} jour), selon le test de Kruskal Wallis, ne diffèrent pas d'une manière significative entre les témoins et les traités aux pesticides testés (p-value>0.05) (Tableau 6).

Tableau 6 : Taux de levée, en fonction du temps, de *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrite (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2)

Jours	Taux de levée de la gesse				
	T	Gly 1	Gly 2	Man 1	Man 2
1	0	0	0	0	0
6	58,66±24,45	55±30,55	48,75±26,29	46,25±25	43,75±31,17
7	84±11,21	82,5±17,70	71,25±27,29	68,75±30,95	66,25±23,90
8	93,33±9,759	90±16,32	76,25±27,53	73,75±28,95	81,25±16,53
11	96±8,28	93,75±14,08	81,25±25,78	87,5±21,75	90±17,32
12	96±8,28	93,75±14,08	81,25±25,78	90±20,65	91,25±17,84
13	96±8,28	93,75±14,08	81,25±25,78	90±20,65	91,25±17,84
18	97,33±7,03	93,75±14,08	82,5±26,20	91,25±20,61	91,25±17,84

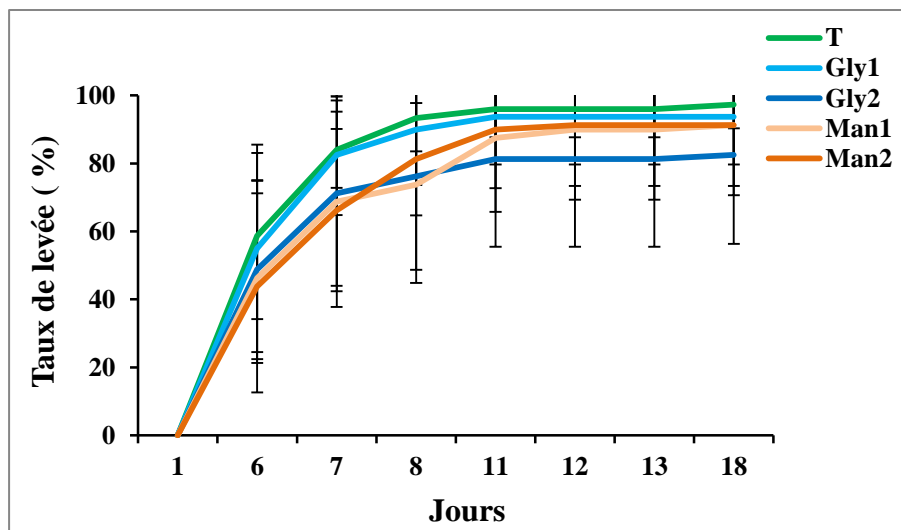


Figure 15 : Evolution des taux de levée, en fonction du temps, de *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrite (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2)

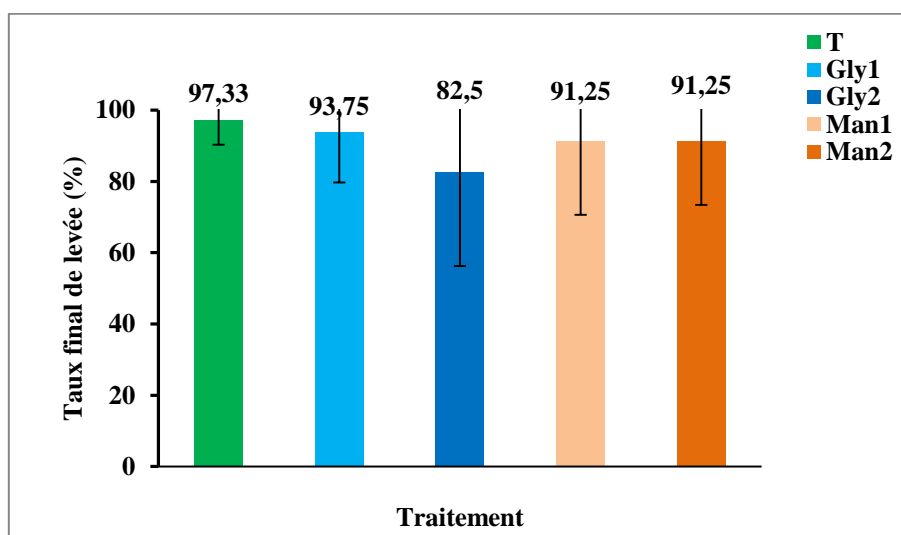


Figure 16 : Taux de levée de *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrite (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2), 18 jours après le semis

Donc, le Glyphosate et le Mancozèbe, aux doses prescrites et aux doubles des doses prescrites n'ont pas d'effet sur le taux de levée de la Gesse sur substrat.

2-3- Effet sur la croissance :

2-3-1-Effet sur la biomasse du système aérien:

La biomasse sèche des parties aériennes des plantules témoin et traitées a été mesurée huit semaines après le semis.

Les différences constatées entre les différents traitements, le lot Gly2 montrant la valeur la plus élevée (0,299g) et le lot Gly1 montrant la valeur la plus faible (0,258) ne sont pas significatives selon le test d'ANOVA ($p\text{-value} > 0.05$) (Figure 17).

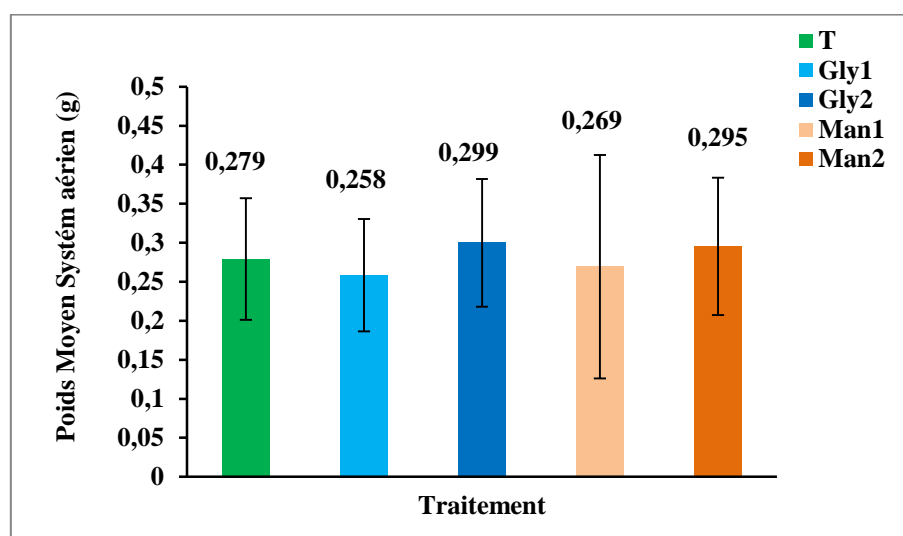


Figure 17: Poids moyen du système aérien de *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2), deux mois après le semis

Donc, les deux pesticides, le Glyphosate et le Mancozèbe, aux doses prescrites et aux doubles des doses prescrites n'ont pas d'effet sur la biomasse de système aérien.

2-3-2- Effet sur la biomasse du système racinaire :

L'effet sur ce paramètre a été évalué deux mois après le semis. Il apparaît que les plantules cultivées sur substrat traité au Gly2 présentent le poids le plus élevé comparativement au témoin aux autres traitements (Figure 18).

Le test statistiques ANOVA ne montre pas de différence significative entre les poids des systèmes racinaires et témoin ($p\text{-value} 0.67 > 0.05$).

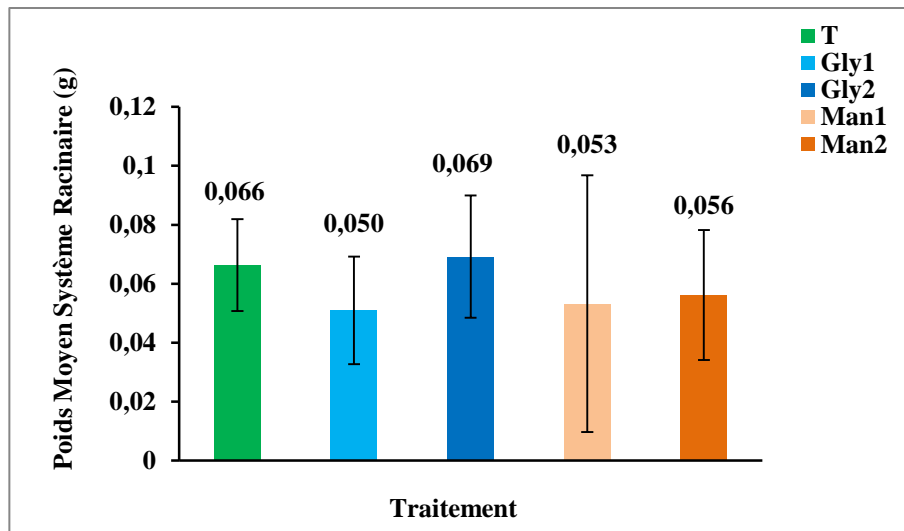


Figure 18: Poids moyen du système racinaire de *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2), deux mois après le semis

Donc, le Glyphosate et le Mancozèbe aux deux doses n'ont pas un effet sur la biomasse du système racinaire.

2-3-3- Effet sur le poids moyen d'une feuille :

Les poids secs de trois feuilles/plant et de quatre plants/traitement ont été déterminés deux mois après le semis afin de calculer le poids moyen d'une feuille/traitement.

Une feuille de Gesse est composée et se termine par des vrilles (Figure 19). Les résultats montrent que les poids moyens d'une feuille, différent entre les traitements, il est plus élevé chez Gly 2 et Man 2 (0.014g), et moins élevé chez le témoin et Gly 1 (0,009g) (figure 18). Cependant, l'analyse statistique ANOVA ne montre pas de différences significatives entre les traitements (Figure 20).



Figure 19 : Une feuille composée avec vrilles terminales de *L. sativus*

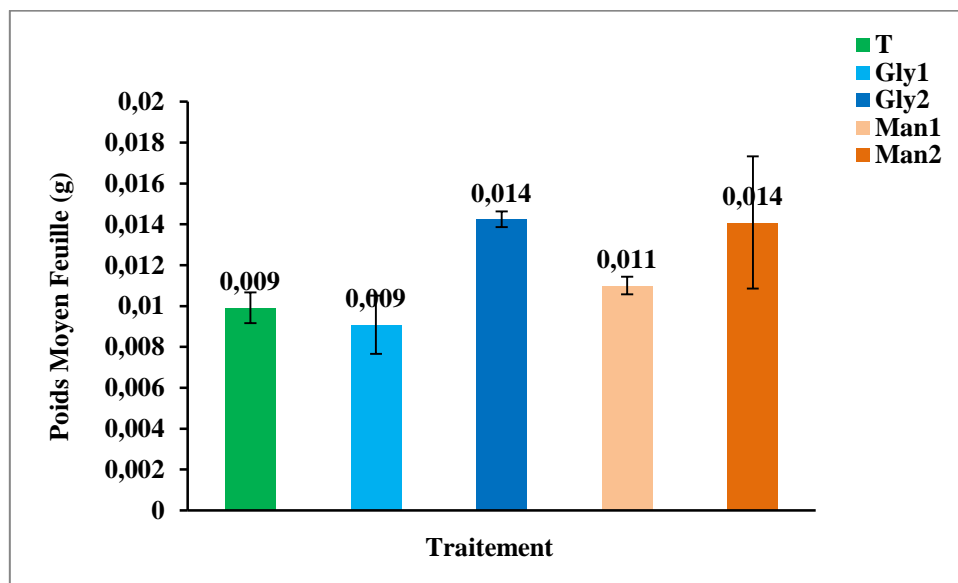


Figure 20: Poids moyen d'une feuille de *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly 1et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2), deux mois après le semis

Donc, le glyphosate et le Mancozèbe aux deux doses testées n'exercent pas d'effet sur le poids moyen d'une feuille.

2-3-4- Effet sur le nombre de nodules :

Les nodules sont présents chez la gesse témoin et traitée (Figure 21) et leurs nombres varient entre 16,75 (Man 1) et 22,49 (Man 2) (Figure 22). Cependant, ces différences constatées ne sont pas statistiquement significatives selon ANOVA ($p\text{-value} > 0.05$).

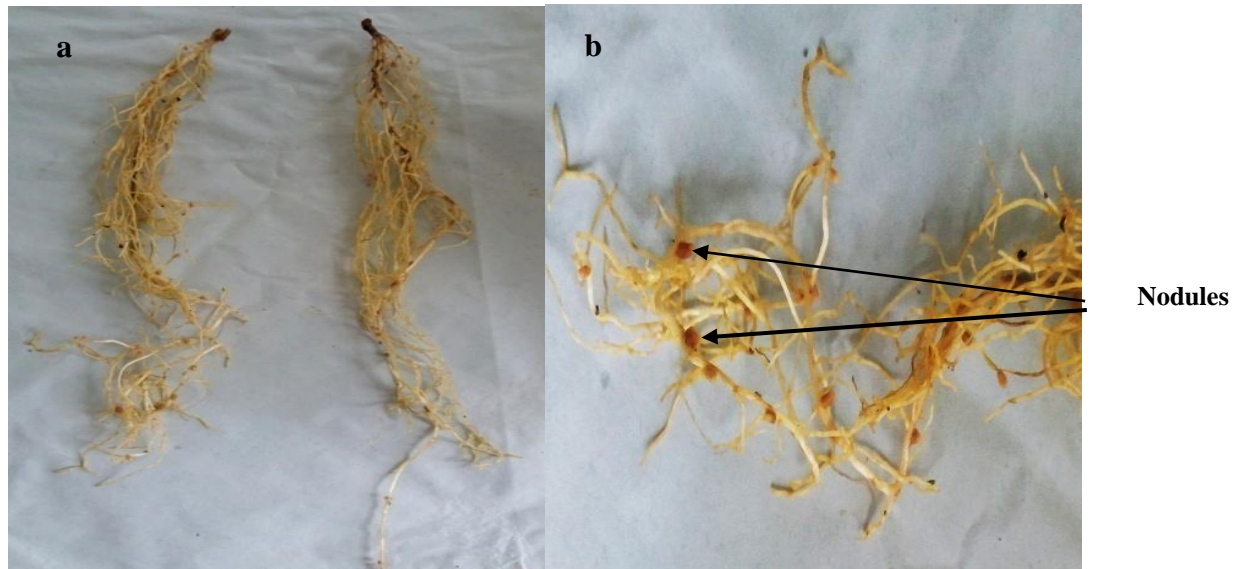


Figure 21 : Systèmes racinaires de plants cultivés sur substrat traité au Mancozèbe, au double de la dose prescrite (Man 2) en **a** et en **b** détail montrant des nodules fixateurs de N_2

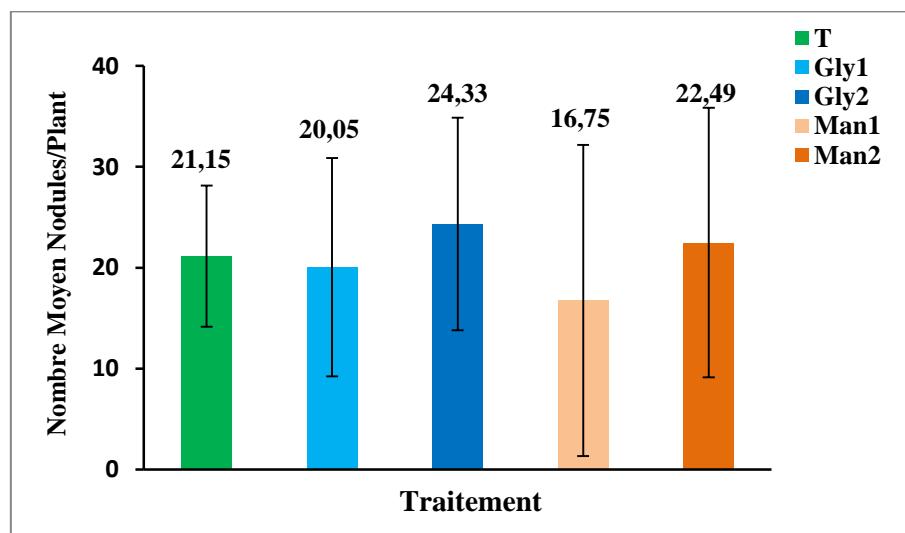


Figure 22: Nombre de nodules, après deux mois de culture, chez *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2)

Donc, le Glyphosate et le Mancozèbe aux doses prescrites et aux doubles des doses prescrites n'exercent pas d'effet sur le nombre de nodules des plantes semés sur substrat.

2-3-5-Effet sur le nombre de fleurs :

Les fleurs de la Gesse sont de trois couleurs rose, bleu et blanc (Figure 23).



Figure 23: Fleurs de *L. sativus*, de trois couleurs (rose, bleu et blanc), obtenues deux mois après le semis

L'observation des courbes représentant le nombre des fleurs en fonction du temps (du 1^{er} au 62^{ème} jours après le semis), chez la Gesse, montre que l'apparition des fleurs commence à partir du 34^{ème} jour après le semis. Une phase exponentielle existe chez tous les lots et elle s'étale du 34^{ème} au 62^{ème} jour (Tableau 7, Figure 24).

Tableau 7 : Nombre de fleurs, en fonction des jours, de *L. sativus* témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly 1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2), deux mois après le semis

Nombre de fleurs de la gesse					
Traitement \ Jours	T	Gly1	Gly2	Man1	Man2
1	0	0	0	0	0
34	0,33±0,81	0.18±0.54	0.25±0.68	0.25±0.68	0.18±0.75
40	0,73±1,16	0.31±0.70	0.5±1.15	0.5±1.15	1±1.67
42	0,8±1,14	0.37±0.71	0.81±1.37	0.81±1.37	1.31±1.81
45	2±1,85	1.18±1.32	1.93±2.04	1.93±2.04	2.37±1.82
48	5,46±3,09	3.75±2.29	4.37±2.94	4.37±2.94	5.43±2.18
52	6,93±2,54	6.25±3.06	6±3.2	6±3.2	6.43±2.27
62	7,4±2,58	7.43±3.26	6.81±3.69	6.81±3.69	7.62±3.13

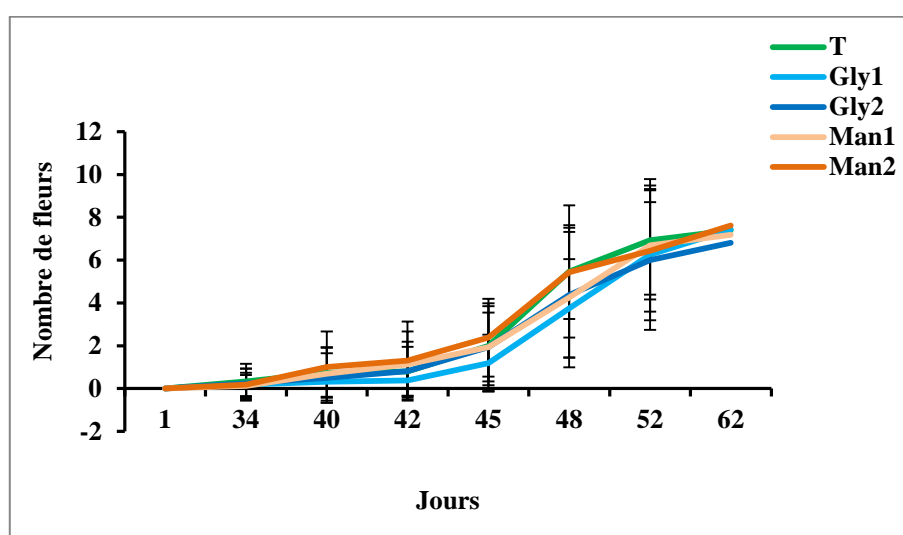


Figure 24 : Evolution du nombre de fleurs, au cours du temps, chez *L. sativus*, témoin et traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly 1 et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2)

Après deux mois, le nombre de fleurs est plus élevé chez le lot Man 2 alors que les lots Gly 2 et Man1 montrent le nombre le plus faible (Figure 25).

L'analyse statistique réalisée chaque semaine (au total huit semaines) soit par l'ANOVA à un facteur (échantillons suivant la loi normale) soit par Kruskal Wallis ne montre pas de différence significative entre le témoin et les traités au cours du temps ($p>0.05$).

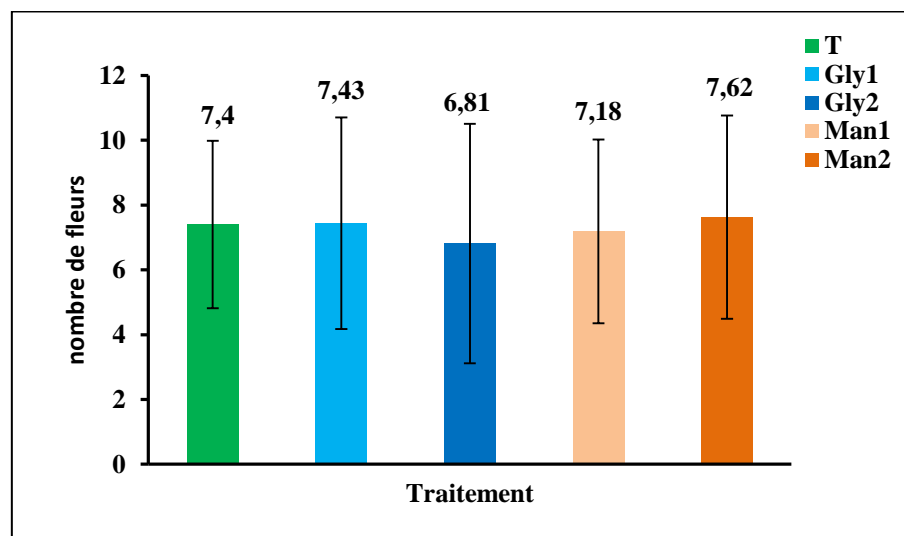


Figure 25 : Nombre de fleurs, deux mois après le semis, chez *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (G2 et Man 2)

Donc, le Glyphosate et le Mancozèbe aux doses prescrites et aux doubles des doses prescrites n'ont pas d'effet sur le nombre des fleurs chez la Gesse cultivée sur substrat.

2-3-6-Effet sur le nombre de gousses :

Les gousses de la Gesse sont petites et plates contenant peu de graines, souvent trois graines (Figure 26).

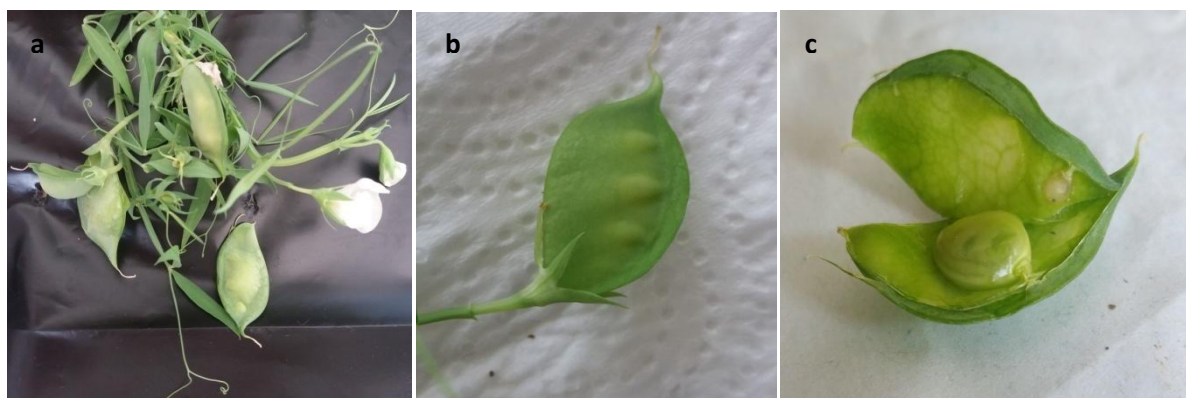


Figure 26: Gousses de *L. sativus* **a** portées par un plant, **b** détail d'une gousse contenant trois graines et **c** gousse ouverte dévoilant une graine

L'observation des résultats représentant le nombre de gousses en fonction du temps (du 1^{er} au 62^{ème} jour après le semis) de la Gesse, montre que les gousses commencent à apparaître à partir du 45^{ème} jour après le semis soit 11 jours après début de la floraison (Tableau 8 et Figure 27).

Tableau 8: Nombre de gousses, en fonction du temps, chez *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly 1et Man 1) et aux doubles des doses prescrites (Gly 2 et Man 2), deux mois après le semis

Nombre de gousse de la gesse					
Traitement \ Jour	T	Gly1	Gly2	Man1	Man2
1	0	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0
42	0	0	0	0	0
45	0,06±0,25	0,06±0,25	0,06±0,25	0,06±0,25	0,06±0,25
48	0,2±0,77	0,06±0,25	0,06±0,25	0,06±0,25	0,5±1,21
52	0,4±0,82	0,25±0,44	0,18±0,40	0,31±0,60	0,68±1,25
62	0,8±0,94	0,68±0,70	0,5±0,63	0,62±0,88	1,25±1,52

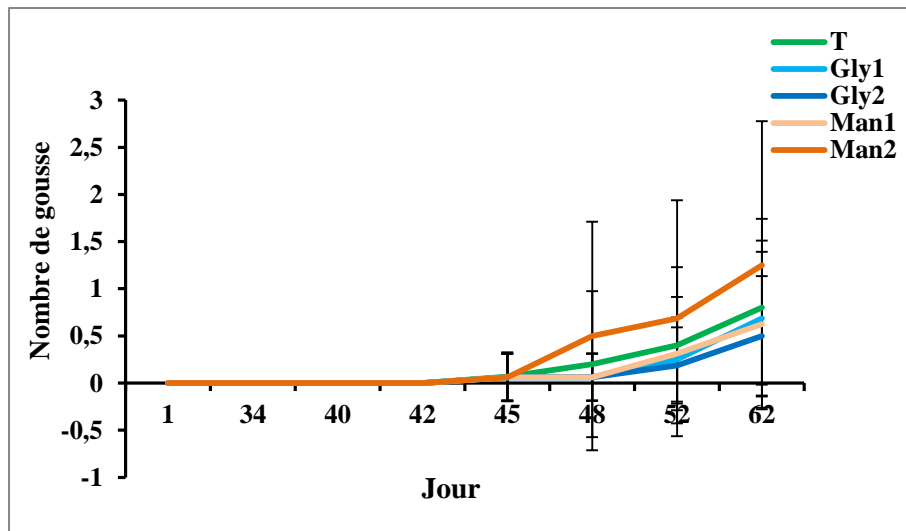


Figure 27: Evolution, au cours du temps, du nombre de gousses chez *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (G2 et Man 2)

Après deux mois, le nombre le plus élevé de gousses est observé chez Man 2 ($1,25 \pm 1,52$) et le nombre le plus faible est noté chez Gly 2 ($0,5 \pm 0,63$) (Figure 28).

Le test de Kruskal Wallis réalisé pour les 6 premières semaines et le test ANOVA réalisé pour les deux dernières (septième et huitième) semaines montre que le Glyphosate et le Mancozèbe, n'exercent pas d'influence sur le nombre de gousses chez *L. sativus* ($p > 0,05$)

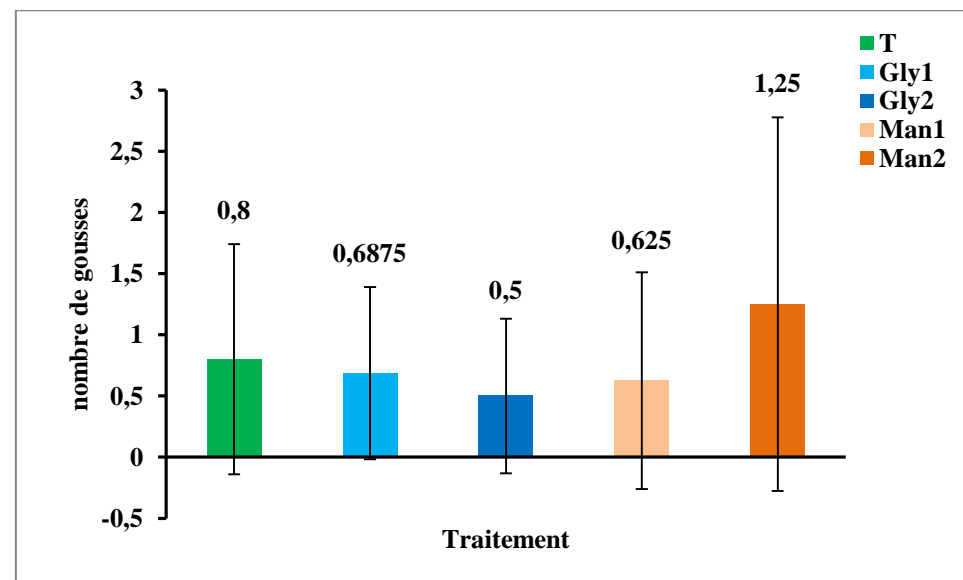


Figure 28: Nombre de gousses, deux mois après le semis, chez *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2)

Donc, comme pour le nombre de fleurs, le Glyphosate et le Mancozèbe, aux doses prescrites et aux doubles des doses prescrites, n'ont pas d'effet sur le nombre de gousses chez la Gesse cultivée sur substrat

2-4- Effet sur la teneur en eau :

2-4-1- Effet sur la teneur en eau du système aérien :

La teneur en eau du système aérien est supérieure à 87% chez *L. sativus* quel que soit le traitement.

Les différences constatées pour ce paramètre ne sont pas statistiquement significatives selon le test d'ANOVA ($p\text{-value} > 0.05$) (Figure 29).

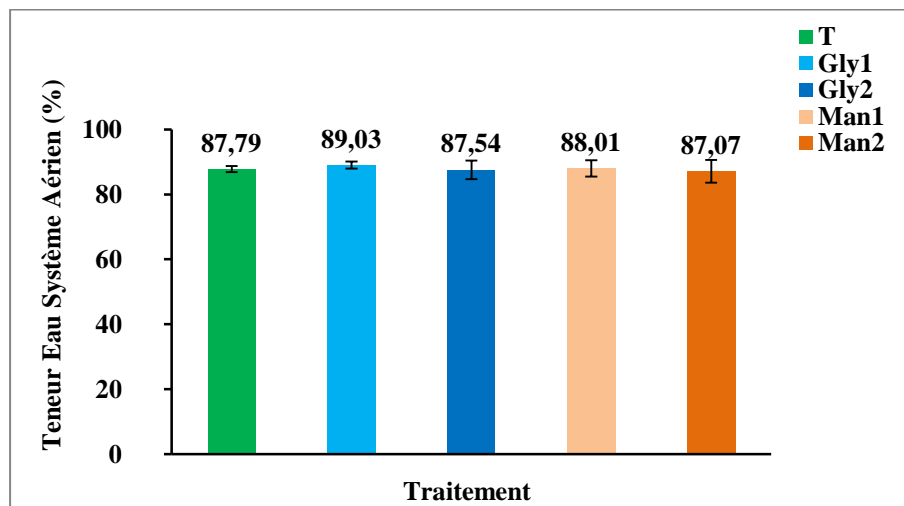


Figure 29 : Teneur en eau du système aérien chez *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), deux mois après le semis

Donc, le Glyphosate et le Mancozèbe aux deux doses testées n'exercent pas d'effet sur la teneur en eau du système aérien.

2-4-2- Effet sur la teneur en eau des feuilles :

La teneur en eau des feuilles chez *L. sativus* est supérieure à 79% quel que soit le traitement. De légères différences sont constatées entre les différents traitements mais le selon test ANOVA, elles ne sont pas significatives ($p\text{-value} > 0.05$) (Figure 30).

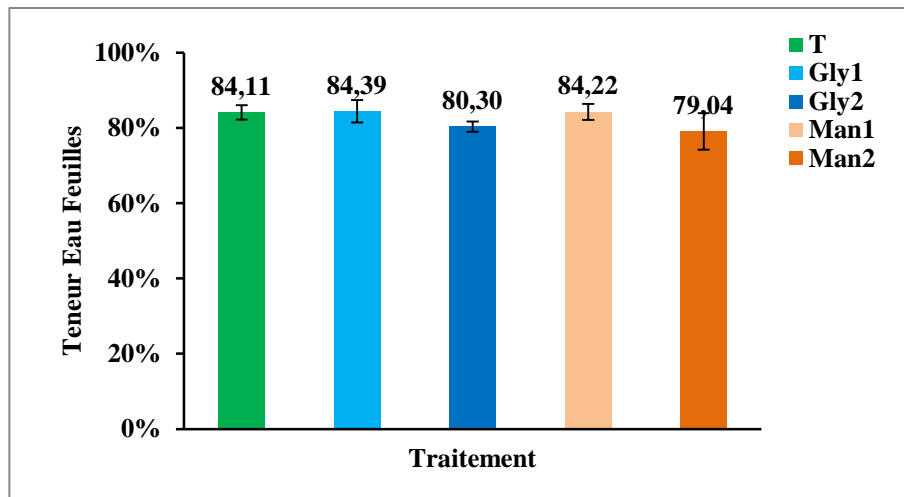


Figure 30: Teneur en eau des feuilles chez *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2), deux mois après le semis

Donc, le Glyphosate et le Mancozèbe n'ont pas modifié la teneur en eau des feuilles aux doses testées.

2-4-3- Effet sur la teneur en eau du système racinaire :

La teneur en eau du système racinaire chez *L. sativus* est supérieure à 81% chez tous les lots. La valeur la plus élevée est enregistrée chez le témoin et Man2 et la valeur la plus faible est observée chez Man1.

Le test d'ANOVA montre que ces différences observées sont significatives (p -value < 0.05). Le traitement Man 1 a un effet négatif sur ce paramètre et les autres traitements (Gly1, Gly2 et Man 2) n'ont eu aucun effet sur la teneur en eau (Figure 31).

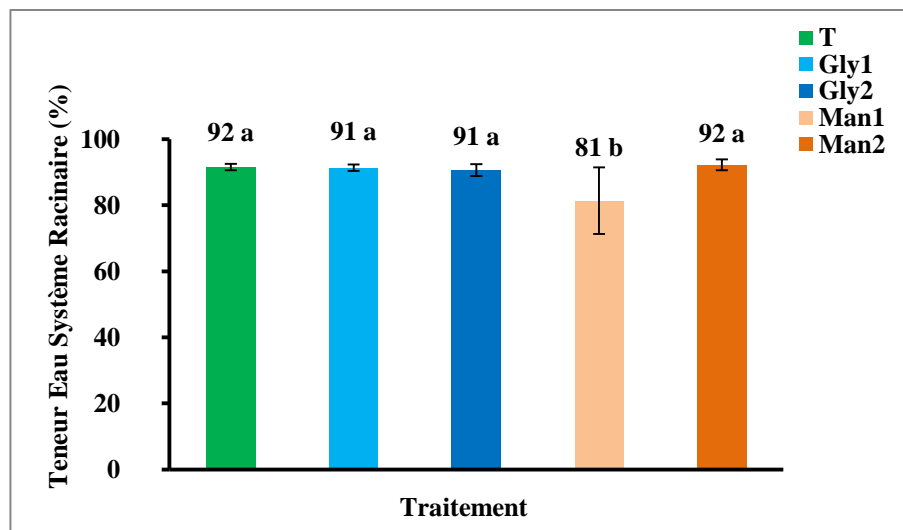


Figure 31: Teneur en eau du système racinaire de *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), deux mois après le semis

Donc, le Glyphosate (Gly1 et Gly2) et le Mancozèbe (Man2) n'ont aucun effet alors que le Man1 a un effet négatif sur la teneur en eau du système racinaire.

2-5-Effet sur la teneur en pigments :

2-5-1-Effet sur la teneur en chlorophylle (a) :

La teneur en Chl (a) est importante, elle dépasse 3800 μ g/g poids sec de feuille pour le témoin et les traités. La valeur la plus élevée est notée chez Man1 (6361.52 μ g/g poids sec) et la plus faible est observée chez Gly2 (3895.52 μ g/g poids sec).

Selon le test de Kruskal wallis, la teneur des feuilles en Chl (a) n'est pas affectée ni par le Glyphosate ni par le Mancozèbe (donne p-value>0.05) (Figure 32).

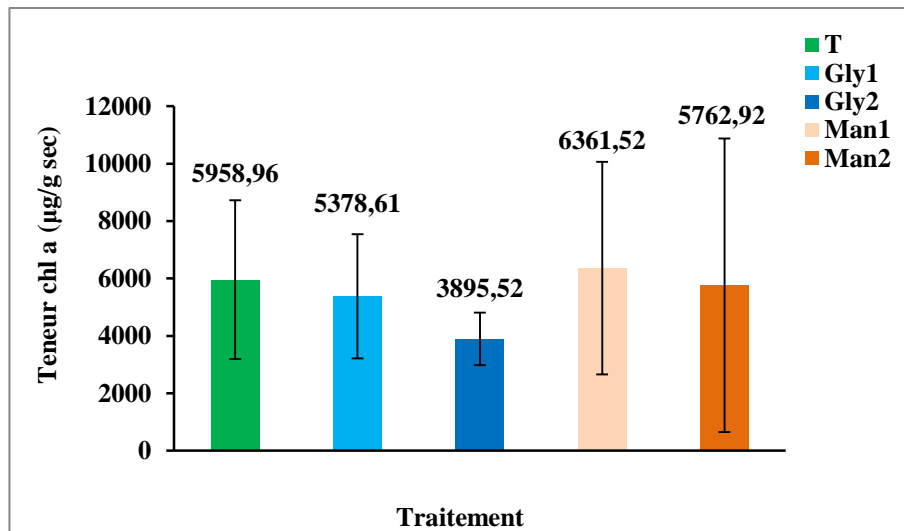


Figure 32: Teneur en chlorophylle (a) des feuilles de *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2), deux mois après le semis

Donc, le Glyphosate et le Mancozèbe n'exercent pas d'effet sur la teneur en chlorophylle (a).

2-5-2- Teneur en chlorophylle (b) :

Les quantités de Chl(b) sont inférieures à celles de la Chl (a). La valeur la plus élevée est observée chez Gly1 (2117.96 µg/g poids sec de feuille) et la valeur la plus faible est notée chez le témoin (766.41 µg/g poids sec de feuille) (Figure 33).

Selon le test ANOVA il existe une différence significative entre le témoin et les traités (p -value<0.05), qui sont classés en trois groupes selon le test post hoc Keuls et Newman:

- Le groupe **a** est constitué de Gly1
- Le groupe **b** est composé par le témoin
- Le groupe **ab** est constitué de Gly2, Man1 et Man2.

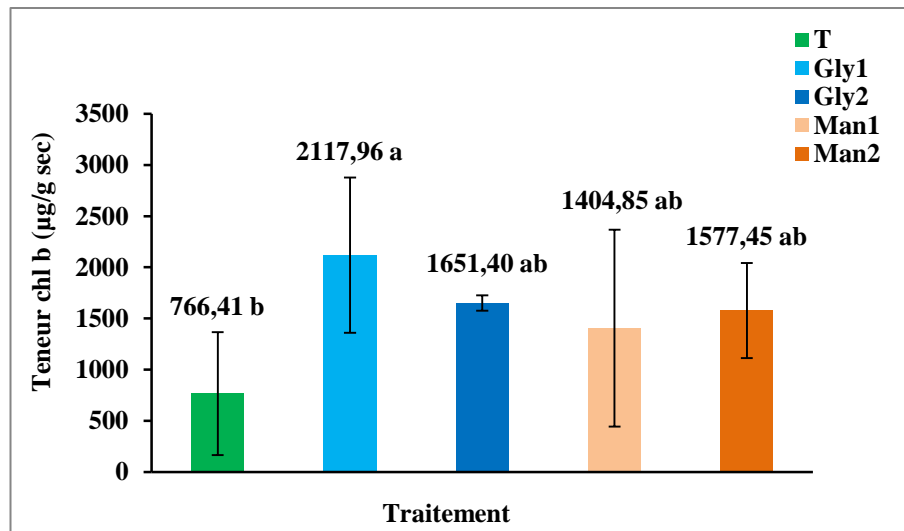


Figure 33 : Teneur en chlorophylle (b) des feuilles de *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2), deux mois après le semis

Donc, les deux pesticides utilisés ont eu un effet positif sur la teneur en chlorophylle (b) et l'augmentation de ce paramètre est plus importante avec le Glyphosate appliqué au à la dose prescrite (Gly 1).

2-5-3-Teneur en chlorophylles (a+b) :

La teneur en Chl (a+b) est importante et dépasse 4700 µg/g poids sec chez le témoin et les traités. La valeur la plus élevée est enregistrée chez Man1 (6997.27µg/g poids sec de feuille) et la valeur la plus faible est observée chez Gly2 (4715.24 µg/g poids sec de feuille) (Figure 34).

Selon le test ANOVA ces différences observées entre les lots ne sont pas significatives (p-value >0.05).

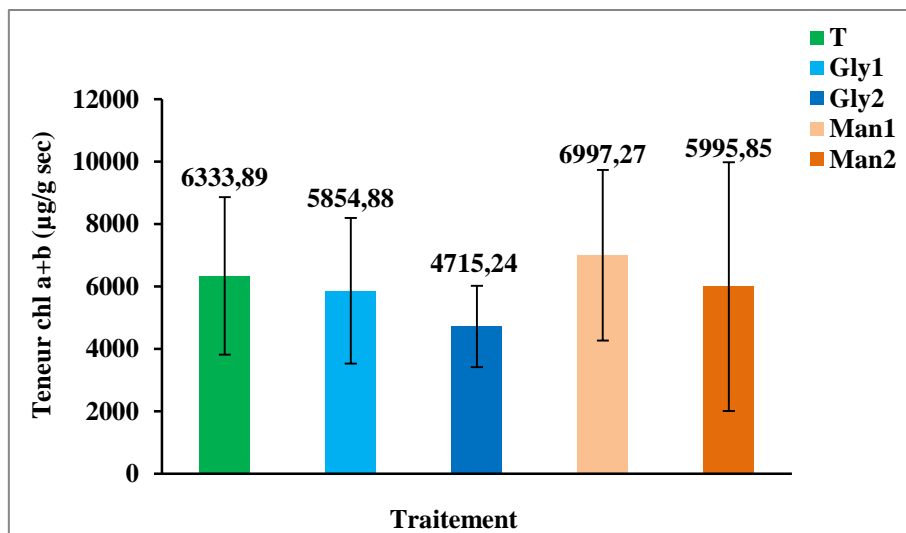


Figure 34: Teneur en chlorophylles (a+b) des feuilles de *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man2), deux mois après le semis

Donc, le Glyphosate les teneurs en chlorophylles (a+b) ne sont pas affectées par le Glyphosate et le témoin.

2-5-4-Effet sur la teneur en caroténoïdes :

La teneur en caroténoïdes dépasse 1600 µg/g poids sec de feuille chez le témoin et les traités. Les quantités les plus élevées sont notées chez Man2 (2239.19µg/g poids sec) et les plus faibles chez Gly2 (1685.28 µg/g poids sec) (Figure 35).

Selon le test ANOVA, ces différences ne sont pas significatives (p-value >0.05).

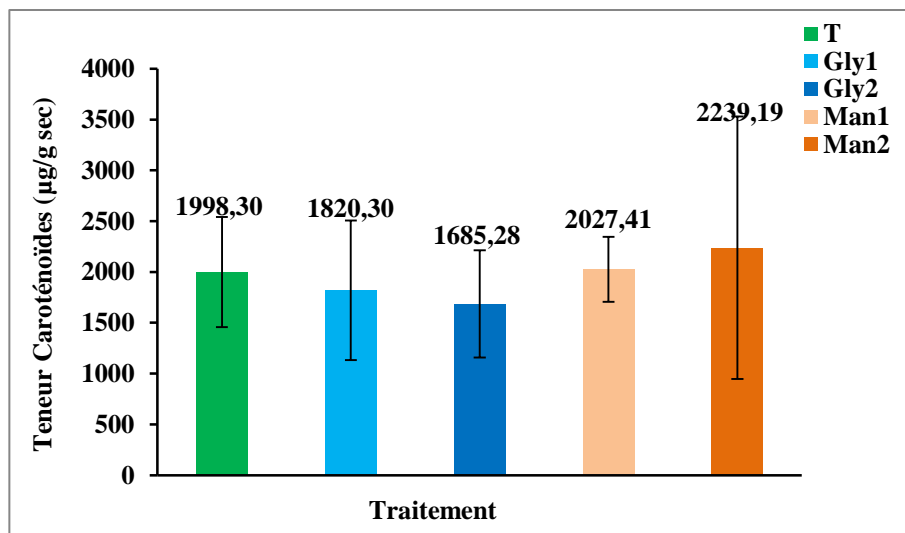


Figure 35 : Teneur en caroténoïdes des feuilles de *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), deux mois après le semis

Donc, le Glyphosate et le Mancozèbe n'ont aucun effet sur la teneur en caroténoïdes.

2-6-Effet sur la teneur en sucres solubles :

La teneur en sucres solubles dépasse 230 µg/g poids sec de feuille chez le témoin et les traités. La valeur la plus élevée est observée chez Man2 (429.93 µg/g poids sec) et la plus faible est notée chez le témoin (230.42 µg/g poids se) (Figure 36).

Ces différences observées ne sont pas statistiquement significatives selon le test ANOVA (p-value >0.05).

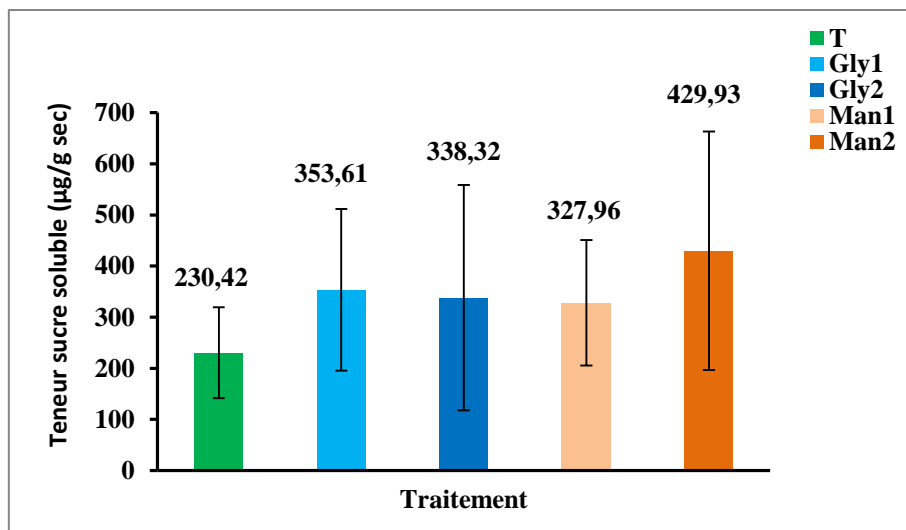


Figure 36: Teneur en sucre solubles des feuilles de *L. sativus*, témoin et sur substrats traités au Glyphosate et au Mancozèbe, aux doses prescrites (Gly1 et Man1) et aux doubles des doses prescrites (Gly2 et Man 2), deux mois après le semis

Donc, le Glyphosate et le Mancozèbe à dose prescrite et au double de la dose prescrite n'exerce pas un effet sur la teneur en sucre solubles.

2-7- Récapitulation des effets du Glyphosate et du Mancozèbe sur la Gesse obtenus sur substrat:

Les effets du Glyphosate et du Mancozèbe obtenus chez la Gesse sur substrat sont résumés dans le tableau 9:

-Le Glyphosate et le Mancozèbe n'ont souvent pas eu d'effet (taux de levée, croissance, teneurs en Ch (a et a+b), caroténoïdes et sucres solubles), mais ils exercent un effet positif sur la teneur en chlorophylle (b).

-Le Glyphosate n'a pas exercé d'effet négatif, et il a un effet positif sur la teneur en chlorophylle b.

-Le Mancozèbe a eu un seul effet négatif sur la teneur en eau du système racinaire et un effet positif sur la teneur en Chlorohylle (b).

Tableau 9 : Récapitulation des effets du Glyphosate et du Mancozèbe sur *L. sativus* cultivé sur substrats traités

Traitements	Glyphosate		Mancozèbe	
	Gly1	Gly2	Man1	Man2
Taux de levée	0	0	0	0
Biomasse aérienne	0	0	0	0
Biomasse racinaire	0	0	0	0
Poids moyen d'une feuille	0	0	0	0
Nombre de fleurs	0	0	0	0
Nombre de gousses	0	0	0	0
Nombre de nodules	0	0	0	0
Teneur en eau partie aérienne	0	0	0	0
Teneur en eau d'une feuille	0	0	0	0
Teneur en eau partie racinaire	0	0	-	0
Teneur en Chl a	0	0	0	0
Teneur Chl b	+	+	+	+
Teneur Chla+b	0	0	0	0
Teneur Carot	0	0	0	0
Teneur en sucres solubles	0	0	0	0

- 0** : Aucun effet
+ : Effet positif
- : Effet négatif

3-Discussion :

Le Glyphosate et le Mancozèbe n'ont, souvent, pas eu d'effet sur les différents paramètres mesurés, dans les boîtes de Pétri chez la Gesse et le Trèfle et sur substrat chez la Gesse.

Ils n'ont pas affecté la germination des deux espèces, dans les boîtes de Pétri, et le taux de levée sur substrat chez la Gesse, aux deux doses testées.

L'étude de l'effet de plusieurs pesticides sur la germination de nombreuses espèces végétales, a montré qu'ils peuvent avoir un effet positif (stimulation), négatif (inhibition) ou être sans effet (effet neutre) (Bariusso, 2003).

La croissance n'a été inhibée que par le Glyphosate (Gly1 et Gly2) chez la Gesse dans les boîtes de Pétri uniquement. Les nombres de nodules, de fleurs et de gousses ne sont également pas affectés chez la gesse.

Les études réalisées sur l'influence des pesticides sur la croissance ont révélé des effets différents selon le pesticide, la dose et l'espèce végétale (Moiroud, 1984).

Le Glyphosate a stimulé la croissance de certaines espèces végétales (Eucalyptus et Pins) mais n'a eu aucun effet sur d'autres espèces (Mais, Soja) à faibles concentrations et ces réponses différentes indiqueraient l'existence ou non de mécanismes de tolérance ou de résistance chez ces espèces (Velini, 2008). Chez *Vigna unguiculata*, le Mancozèbe provoque une diminution de remplissage des gousses conduisant à une baisse du rendement grainier (Akinbo et al., 2006).

En accord avec nos résultats, Castro et al. (1997) in Aynalem et Assefa (2017) n'ont signalé aucun effet significatif du Glyphosate et du mancozèbe sur la biomasse sèche et le nombre de nodules chez la féverole (*Vicia faba*) cultivée sur sol. Cependant, une réduction significative du nombre de nodules formés a aussi été signalée, en présence de certains fongicides, dans le système *Rhizobium-Trifolium* (Isher et Ayes, 1981, 1982 in Moiroud, 1984). Selon Moiroud (1984), l'effet des herbicides et des fongicides sur la formation des nodules dépend de la concentration ; l'inhibition est plus importante avec l'augmentation de la concentration. Il est connu que des produits actifs contre les champignons phytopathogènes le sont aussi contre certaines bactéries, notamment celles du genre *Rhizobium* (Fisher et Hayes, 1982 in Moiroud, 1984). Cependant, certains isolats de *Rhizobium* de la féverole résistent au

mélange de Glyphosate et de Mancozèbe et utilisent le Glyphosate comme source de Phosphore car ce dernier est un facteur limitant la croissance des Rhizobium dans certaines conditions (Aynalem et Assefa, 2017)

L'effet neutre du Glyphosate sur la croissance pourrait être expliqué par un effet inhibiteur sur la croissance et un effet positif par apport de phosphates simultanément (Aynalem et Assefa, 2017). Ces phosphates sont, en effet, libérés par les microorganismes assurant la biodégradation du Glyphosate qui sont, donc, stimulés par la présence de celui-ci dans le sol (Haney et al., 2000 et Mijangos et al., 2009 in Aynalem et Assefa, 2017). Le Mancozèbe pourrait être impliqué dans un processus de libération d'autres molécules importantes pour les plantes (par exemple nitrates, Mn, Zn).

Le Glyphosate et le Mancozèbe n'ont pas eu d'effet sur les teneurs en chlorophylles (a), chlorophylle (a+b), caroténoïdes et sucres solubles, mais ont augmenté la teneur en chlorophylle (b) chez la Gesse.

L'effet des fongicides et les insecticides (à des concentrations de 0,1%, 1% et 2% de DDT et de mélange de Bordeaux) présentaient une déviation significative ($P < 0,001$) sur les spectres d'absorption de la chlorophylle a et b. (Siddiqui et Khan 2001 in Romilly et Bincy, 2014). Ils ont observé les teneurs en chlorophylle (b) et en composés phénoliques stimulées par l'action de fongicides systémiques et insecticides à des concentrations plus faibles (Romilly et Bincy, 2014).

Selon Huang et al. (2011), les teneurs en Chl (a) et Chl (b) sont diminuées chez *Imperata cylindrica* par l'augmentation de la concentration et du temps de traitement au glyphosate qui pourrait être due à une augmentation de la dégradation des chlorophylles, à une diminution de leurs synthèses (Santos 2004 in Huang et al., 2011) ou à une réduction du nombre de chloroplastes (Marchner et 2004 in Huang et al., 2011). Cette diminution des quantités de chlorophylles est responsable d'une baisse du rendement photosynthétique. L'insensibilité des chlorophylles totales au Glyphosate et au Mancozèbe expliqueraient, dans notre cas, le maintien de la croissance chez la Gesse.

L'augmentation des teneurs en chlorophylle b obtenue chez la Gesse est similaire aux résultats de Romilly et Bincy (2014); de nombreux fongicides systémiques et insecticides, à faibles concentrations, augmentent les quantités de chlorophylles (et de composés

phénoliques) chez l'espèce de *Vigna Sinensis* L, par des mécanismes non élucidés et pour de rôles inconnus.

Contrairement à nos résultats, chez la canne à sucre, de faibles doses de glyphosate sont utilisées pour améliorer l'accumulation de saccharose (Su LY et al., 1992, Dusky et al., 1986 in Velini, 2008) mais par des mécanismes non encore compris (Velini, 2008).

Les mécanismes impliqués dans les effets, neutre, négatif et positif exercés par les pesticides ne sont pas toujours élucidés.



Conclusion

Dans le cadre de ce mémoire, nous avons étudié l'effet de deux pesticides : un herbicide, le Glyphosate et un fongicide, le Mancozèbe, aux doses prescrites et aux doubles de ces doses, sur la germination, la croissance et la physiologie de deux espèces de Légumineuses très importantes économiquement et écologiquement, la Gesse et le Trèfle dans deux milieux différents : les boîtes de Pétri et sur substrat.

Dans les boîtes de Pétri, l'effet a été évalué par la mesure du taux de germination, la biomasse sèche et la teneur en eau des plantules. Les effets enregistrés sont neutres sur la germination des deux espèces. Le Glyphosate a eu un effet négatif sur la croissance de la Gesse uniquement, et le Mancozèbe n'a eu aucun effet significatif sur ce paramètre chez les deux espèces. Le Mancozèbe a eu un effet positif sur la teneur en eau chez les deux espèces, surtout à faible dose. Le Glyphosate a enregistré un effet négatif sur la Gesse (l'effet de la dose prescrite est important) et sur le Trèfle a eu un effet négatif avec sa dose prescrite et sans effet (neutre) pour le double de la dose prescrite.

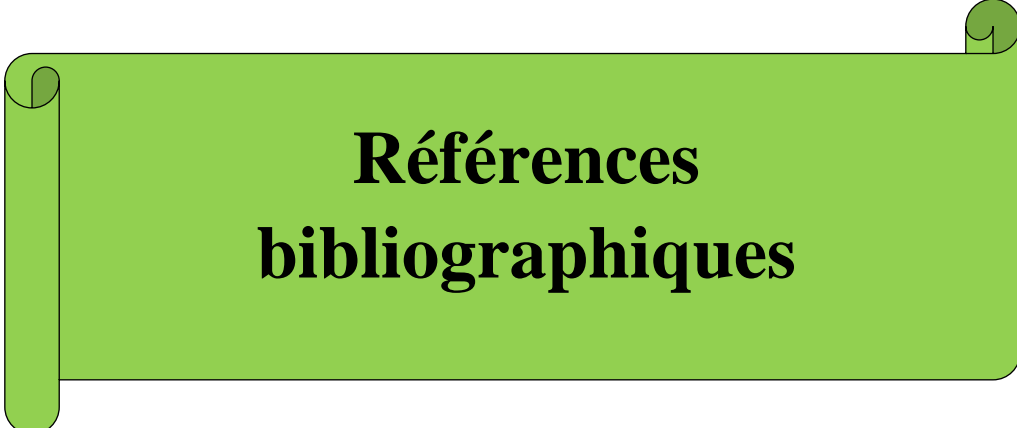
Sur substrat contaminé, l'effet de ces deux pesticides a été évalué, uniquement chez la Gesse, par la mesure d'un grand nombre de paramètres morphologiques et physiologiques. Les résultats obtenus montrent que le Glyphosate et le Mancozèbe sont sans effet (effet neutre) sur la majorité des paramètres mesurés (taux de levée, teneur en eau des feuilles et des systèmes aérien, poids sec des systèmes aérien et racinaire et poids sec moyen d'une feuille, nombres de fleurs, de gousses et de nodosités, teneurs en chlorophylle (a), chlorophylles totales, en caroténoïde et en sucres solubles). Le seul effet négatif obtenu est exercé par le Mancozèbe à faible dose sur la teneur en eau du système racinaire. Les deux pesticides, aux deux doses testées ont augmenté les teneurs en chlorophylle (b).

Les effets neutres peuvent être expliqués par l'insensibilité des espèces étudiées et/ ou l'élimination des pesticides soit par dégradation physico-chimique soit par biodégradation (essentiellement par la microflore du sol). Les doses utilisées peuvent également être inoffensives et ne correspondraient pas aux doses toxiques.

Comme ces molécules sont utilisées d'une manière continue dans les sols agricoles, pour augmenter les rendements, il serait intéressant, dans le futur, de tester d'autres doses, plus élevées de Glyphosate et de Mancozèbe, qui représenteraient mieux la réalité de la contamination de ces sols et un mélange de ces substances, sur ces espèces et d'autres espèces à importance économique et/ écologique (céréales, fruits, légumes, ligneux.....etc). Ces espèces sont une source importante de contamination de l'Homme.

Donc, de telles molécules risquent de devenir des problèmes de santé publique. Elles pourraient également provoquer de graves perturbations dans les écosystèmes.

Le droit des générations futures nous impose l'utilisation de substances inoffensives, sans conséquences négatives sur les écosystèmes et la recherche de méthodes et de techniques d'amélioration de rendements sans le recours à de telles molécules (travail du sol, choix variétal, alternance des cultures.....). Ainsi, des programmes de recherche alliant agronomie, écologie des populations et écologie du paysage sont à encourager.



Références bibliographiques



Annexes

Annexe 1 : La marque de Glyphosate utilisé



Annexe 2 : La marque de Mancozèbe utilisé



Annexe 3 : composition du réactif d'Anthrone

2 ml d'Anthrone rajouté à 10 ml d'acide sulfurique 91%,
préparation à froid en suite conservation à l'obscurité