

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عبد الحميد بن باديس \_ مستغانم  
Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem

كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا  
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**Magistère en biologie**

**Option**

**«Science du Sol et Environnement»**

par

**M. BOUZIANI El Hadj**

**Thème**

**Contribution à l'étude de l'effet des métaux lourds (Plomb) sur les caractéristiques biométriques et chimiques de la fève (*Vicia faba* L.)**

Laboratoire de la Biodiversité et Conservation des Eaux et des sols, université de Mostaganem.

Laboratoire d'Agro-biotechnologie et de Nutrition en Zones Semi-Arides, université Ibn Khaldoun de Tiaret

**Devant le jury :**

Nom et prénom	Grade	Qualité	Appartenance administrative
LOTMANI Brahim.	Pr	Président	Université de Mostaganem
REGUIEG YSSAAD Houcine.A.	MC <sub>A</sub>	Encadreur	Université de Mostaganem
ADDA Ahmed.	MC <sub>A</sub>	Co-encadreur	Université de Tiaret
BELKHODJA Moulay.	Pr	Examineur	Université d'Oran
SAIDI Djamal.	Pr	Examineur	Université de Chelef

**Année universitaire : 2011 / 2012**

*A la mémoire de ma mère*

*A mon père*

*A ma famille*

*A mes ami(e)s*

*A ma femme*

*Pippo 2012.*

## *Remerciements*

---

Faire les remerciements... Ce devrait être la partie la plus facile à écrire après avoir rédigé ce manuscrit. Pourtant, il y a tant de personnes à remercier, qui ont participé de près ou de loin à ce travail. Il faut à la fois n'oublier personne et trouver les mots justes. Je vais essayer de faire de mon mieux.

Tout d'abord, je tiens à témoigner ma reconnaissance envers mon encadreur, **Monsieur REGUIEG YSSAAD Hocine Abdel Hakim**, Maître de conférences à l'Université de Mostaganem, qui était toujours disponible pour partager son temps et ses connaissances, je le remercie pour avoir suivi mon travail avec intérêt et l'éclairé de ses remarques avisées tout au long de sa réalisation.

Je tiens tout particulièrement à remercier mon co-encadreur, **Monsieur ADDA Ahmed**, Maître de conférences à l'université de Tiaret, pour son encadrement scientifique, son soutien et sa disponibilité. Je le remercie également de la confiance qu'il m'a accordée au cours de la réalisation de ce travail.

Je tiens à exprimer mes reconnaissances à **Monsieur Lothmani Brahim**, professeur à l'université de Mostaganem, pour avoir accepté de présider mon jury.

Je suis très honoré également, que **Monsieur BELKHOUSA Moulay**, professeur à l'université d'Oran, ait accepté de juger mon travail, je les remercie sincèrement de l'intérêt qu'il y a porté.

Mes vifs remerciements vont également, à **Monsieur SAIDI Djamel**, professeur à l'université de Chelef, d'avoir accepté de faire part de mon jury.

J'adresse aussi une pensée toute particulière aux membres du laboratoire de physiologie végétale de l'université de Tiaret. Qu'ils soient remerciés pour leur généreuse collaboration. J'en profite également pour remercier mademoiselle **Abdeli A**, pour son soutien durant la période de l'expérimentation.

Je voudrais exprimer ma gratitude aux personnels de la station régionale d'expérimentation INSID de Ksar Chellala-Tiaret, je cite à leurs têtes, **Monsieur BOUDAOUH Hafidh** Directeur de la station, et le responsable du laboratoire **Monsieur BHIH Eddine**, pour leur soutien, leur encouragement, et de m'avoir accueillis au laboratoire pour réaliser mes analyses.

Mes vifs remerciements vont spécialement à mon ami de travail, **Monsieur Slimane BENOUI**, pour sa disponibilité et son soutien.

Je ne pourrai oublier le reste de notre équipe, **NOURI T, DJOUDI AH, OUAINI AR** et **OUANOUKI M**, pour leurs soutiens et leurs présences durant notre parcours.

Je tiens à remercier également tous ceux qui m'ont soutenu moralement : mon père et les autres... Merci aussi à ma petite rose blanche que le vent a bien voulu mener jusqu'à moi...

Enfin, je voudrais exprimer mon immense reconnaissance à tous ceux qui ont d'une manière ou d'une autre contribué à l'élaboration de ce travail et qui ont su m'apporter leur soutien.

---

-☪\* TABLE DES MATIERES \*☪-

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>3</b>
<b>CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>7</b>
<b>1. LE PLOMB COMME POLLUANT ENVIRONNEMENTAL. ....</b>	<b>8</b>
1.1. HISTOIRE DE L'UTILISATION DU PLOMB.....	8
1.2. CYCLE BIOGEOCHIMIQUE .....	8
1.3. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DU PLOMB .....	10
1.4. ORIGINES DES POLLUTIONS PAR LE PLOMB.....	11
1.4.1. Origines naturelles.....	11
1.4.2. Origines anthropiques .....	11
<b>2. LE PLOMB ET L'HOMME.....</b>	<b>13</b>
2.1. LES VOIS D'INTRODUCTION .....	13
2.2. LA TOXICITE DU PLOMB .....	13
2.2.1. Intoxicit� aiguë .....	13
2.2.2. Intoxication chronique .....	14
<b>3. LE PLOMB DANS LE SOL .....</b>	<b>15</b>
3.1. ASSOCIATIONS AVEC LES DIFFERENTS CONSTITUANTS DU SOL.....	15
3.1.1. Interactions avec les oxydes de fer et de manganèse .....	15
3.1.2. Interactions avec les argiles .....	16
3.1.3. Interactions avec les carbonates et les phosphates.....	16
3.1.4. Interactions avec les matières organiques du sol (MOS).....	16
3.2. LA MOBILITE DU PLOMB.....	17
3.2.1. Facteurs modifiant la mobilité du plomb.....	17
<b>4. LE PLOMB DANS LE SYSTEME SOL-PLANTE.....</b>	<b>18</b>
4.1. MECANISMES D'INTERACTION SOL-PLANTE : IMPACT DES ACTIVITES RACINAIRES.....	19
4.1.1. Modification du pH.....	19
4.1.2. Modification des concentrations ioniques dans la rhizosphère .....	20
4.1.3. Exsudation d'acides organiques dans la rhizosphère.....	20
<b>5. LE PLOMB DANS LA PLANTE .....</b>	<b>21</b>
5.1. NOTION DE PHYTODISPONIBILITE .....	21
5.2. ABSORPTION .....	22
5.3. TRANSFERT DU PLOMB DU SOL VERS LES RACINES .....	23
5.4. TRANSLOCATION DU PLOMB DES RACINES VERS LES PARTIES AERIENNES.....	23
5.5. ACCUMULATION .....	24
5.6. LA TOXICITE DU PLOMB .....	24
5.6.1. Action sur la germination et la croissance. ....	25
5.6.2. Action sur les protéines.....	26
5.6.3. Action sur les activités enzymatiques.....	27
5.6.4. Effets sur la photosynthèse.....	29
5.6.5. Effets sur la respiration .....	29
5.6.6. Effets sur le statut hydrique .....	30

5.6.7.	<i>Effets sur la nutrition minérale</i> .....	31
5.6.8.	<i>Effets antimitotique et génotoxicité du plomb</i> .....	32
<b>6.</b>	<b>LE MODELE BIOLOGIQUE <i>VICIA FABA</i> L.</b> .....	<b>34</b>
6.1.	LA PLANTE .....	34
6.1.1.	<i>Classification</i> .....	34
6.1.2.	<i>Aspect et particularités</i> .....	34
6.1.3.	<i>Culture</i> .....	35
6.1.4.	<i>Cariotype et cycle cellulaire</i> .....	36
6.2.	INTERET EN ECOTOXICOLOGIE.....	36
	<b>CHAPITRE II : MATERIELS &amp; METHODES.....</b>	<b>37</b>
<b>1.</b>	<b>OBJECTIFS DU TRAVAIL</b> .....	<b>38</b>
<b>2.</b>	<b>MATERIELS VEGETAL UTILISE</b> .....	<b>38</b>
<b>3.</b>	<b>PREMIER ESSAI : EFFET DU PLOMB SUR LE PROCESSUS DE LA GERMINATION DES GRAINES</b> .....	<b>39</b>
3.1.	CONDUITE DE L'ESSAI.....	39
3.1.1.	<i>Taux d'imbibition</i> .....	39
3.1.2.	<i>Extraction et dosage des activités des -amylases</i> .....	39
3.1.3.	<i>La longueur de la radicule</i> .....	40
<b>4.</b>	<b>DEUXIEME ESSAI : EFFET DE PLOMB SUR LES PARAMETRES MORPHOLOGIQUES, PHYSIOLOGIQUES ET ANATOMIQUES.....</b>	<b>40</b>
4.1.	CONDUITE DE L'ESSAI.....	40
4.2.	APPLICATION DU STRESS METALLIQUE.....	43
4.3.	PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES .....	43
4.3.1.	<i>La teneur relative en eau (RWC)</i> .....	43
4.3.2.	<i>Dosage des pigments chlorophylliens</i> .....	43
4.3.3.	<i>Dosage du proline</i> .....	44
4.3.4.	<i>Dosage des sucres solubles</i> .....	44
4.3.5.	<i>Taux de protéines brutes des graines (PRT):</i> .....	45
4.3.6.	<i>Le potentiel osmotique (PO)</i> .....	45
4.3.7.	<i>Le poids sec</i> .....	46
4.4.	PARAMETRES MORPHOLOGIQUES .....	46
4.4.1.	<i>Paramètres morphologiques aériens</i> .....	46
4.4.2.	<i>Paramètres morphologiques sous terrain</i> .....	46
4.5.	PARAMETRES ANATOMIQUES .....	46
<b>5.</b>	<b>ANALYSE STATISTIQUE</b> .....	<b>47</b>
	<b>CHAPITRE III RESULTATS &amp; DISCUSSIONS.....</b>	<b>49</b>
<b>I.</b>	<b>PREMIER ESSAI : EFFET DU PLOMB SUR LE PROCESSUS DE LA GERMINATION</b> .....	<b>50</b>
<b>1.</b>	<b>TEST D'IMBIBITION</b> .....	<b>50</b>
<b>2.</b>	<b>L'ACTIVITE DE L' AMYLASE</b> .....	<b>51</b>
<b>3.</b>	<b>LA LONGUEUR DE LA RADICULE</b> .....	<b>52</b>
<b>II.</b>	<b>DEUXIEME ESSAI : EFFET DE PLOMB SUR LES PARAMETRES MORPHOLOGIQUES, PHYSIOLOGIQUES ET ANATOMIQUES DE LA FEVE</b> .....	<b>56</b>

<b>1. EFFET DU PLOMB SUR LES PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES.....</b>	<b>56</b>
1.1. TENEUR EN EAU RELATIVE (RWC).....	56
1.2. POTENTIEL OSMOTIQUE ( $\psi$ ).....	60
1.3. TAUX DES PIGMENTS PHOTOSYNTHETIQUES.....	64
1.3.1. Taux de la chlorophylle a.....	64
1.3.2. Taux de la chlorophylle b.....	65
1.3.3. Le taux de la chlorophylle a+b.....	67
1.3.4. Taux des caroténoïdes.....	69
1.4. TENEUR EN SUCRES SOLUBLES.....	73
1.5. TAUX DES PROTEINES TOTALES.....	76
1.6. TENEUR EN PROLINE.....	79
1.7. LE POIDS SEC.....	83
1.7.1. Le poids sec de la partie racinaire.....	83
1.7.2. Le poids sec de la partie aérienne.....	85
<b>2. EFFET DU PLOMB SUR LES PARAMETRES MORPHOLOGIQUES.....</b>	<b>90</b>
2.1. LA SURFACE FOLIAIRE.....	90
2.2. NOMBRE DE FEUILLES.....	91
2.3. NOMBRE DE GOUSSES.....	94
2.4. HAUTEUR DE LA TIGE.....	97
2.5. LONGUEUR RACINAIRE.....	99
2.6. VOLUME RACINAIRE.....	102
<b>3. EFFET DU PLOMB SUR L'ANATOMIE DE LA TIGE.....</b>	<b>107</b>
3.1. LE NOMBRE DES FAISCEAUX CRIBRO-VASCULAIRES.....	107
3.2. DISTANCE ENTRE LES FAISCEAUX CRIBRO-VASCULAIRES.....	109
3.3. DIAMETRE DU METAXYLEME.....	112
3.4. ÉPAISSEUR DE LA PAROI EXTERNE DES CELLULES EPIDERMiques.....	115
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>120</b>

## Références bibliographiques

## Annexes

## -☪\* LISTE DES FIGURES \*☪-

**Figure n°1** : Cycle biogéochimique des ETM adapté selon Lamand, (1991) (Tremel-Schaub et Feix, 2005).

**Figure n°2** : Sources anthropiques de la pollution en plomb (Sharma et Dubey, 2005).

**Figure n°3**: Présentation schématique de l'interaction rhizosphérique sol-plant (Hinsinger, 2004).

**Figure n°4** : Facteurs limitant la solubilisation du plomb dans le sol, l'absorption par les racines et la translocation vers la partie aérienne (Shahid, 2010).

**Figure n°5** : Coupe transversale de racine, avec le passage des ions selon les voies symplastiques et apoplastiques (Gobat et al., 1998).

**Figure n°6**: Représentation des liens avérés (flèches pleines) et potentiels (flèches pointillées) entre le plomb, la mitose et la génotoxicité (Pourrut, 2008).

**Figure n°7**: Les différentes parties de la fève *Vicia faba* L. (Thomé 1885).

**Figure n°8**: Dispositif expérimental (en haut le génotype Sidi Aïch, en bas le génotype Super Aguadulce).

**Figure n°9**: Micro-osmomètre (VAPRO).

**Figure n°10**: Coupe anatomique sur la tige de la fève avec les paramètres anatomiques étudiés.

**Figure n°11** : Conduite de l'expérimentation et application du stress métallique.

**Figure n°12** : l'évolution de l'imbibition des graines de la fève (*Vicia faba*) en (g) d'eau en fonction du temps (h) pour les trois traitements (0, 500 et 1000 ppm de Pb). A : V1 (sidi Aïch), B : V2 (Super Aguadulce).

**Figure n°13**: l'évolution de la dégradation de l'amidon des deux génotypes V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500, 1000 ppm).

**Figure n°14**: l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la longueur de la racicule (mm) des deux génotypes V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500, 1000 ppm).

**Figure n°15**: l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la RWC (%) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0. 500 et 1000 ppm).

**Figure n°16**: l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la RWC (%) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0. 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°17** : l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du potentiel osmotique (Kpas) de V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°18 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du potentiel osmotique (Kpas) de V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°19 :** Evolution des taux des pigments (chlorophylle A, B, A+B et caroténoïdes) en fonction de la dose de Pb (ppm).

**Figure n°20:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) des sucres solubles ( $\mu\text{g/g}$ ) des deux génotypes V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°21:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) des sucres solubles ( $\mu\text{g/g}$ ) des deux génotypes V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°22:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du taux des protéines brutes (%) de V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°23:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du taux des protéines brutes (%) de V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°24:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la proline  $\mu\text{g/g}$  des deux génotypes V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500, 1000ppm).

**Figure n°25:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la proline ( $\mu\text{g/g}$ ) des deux génotypes V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000, 2000ppm).

**Figure n°26:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du poids sec de la partie racinaire (g) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°27:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du poids sec de la partie racinaire (g) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°28:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du poids sec de la partie aérienne (g) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°29:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du poids sec de la partie aérienne (g) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°30:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la surface foliaire ( $\text{Cm}^2$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°31:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du nombre de feuilles pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).



**Figure n°32:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du nombre de feuilles pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°33:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du nombre de gousses pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°34:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du nombre de gousses pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°35:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la hauteur de tige (Cm) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°36:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la hauteur de tige (Cm) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°37:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la longueur racinaire (Cm) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°38:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la longueur racinaire (Cm) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°39:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du volume racinaire (ml) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°40:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du volume racinaire (ml) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°41:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du nombre des faisceaux cribro-vasculaire pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°42:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du nombre des faisceaux cribro-vasculaire pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°43:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la distance entre les faisceaux cribro-vasculaire ( $\mu\text{m}$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°44:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la distance entre les faisceaux cribro-vasculaire ( $\mu\text{m}$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°45:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du diamètre du métaxylème ( $\mu\text{m}$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°46:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du diamètre du métaxylème ( $\mu\text{m}$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

**Figure n°47:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de l'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques ( $\mu\text{m}$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

**Figure n°48:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de l'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques ( $\mu\text{m}$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

## - ❧\* LISTE DES TABLEAUX \* ❧-

**Tableau n°1** : Evolution de la production primaire de plomb de 1975 à 2003 (kt/an) (Cecchi, 2008).

**Tableau n°2** : Principales propriétés physico-chimiques du plomb (Pourrut, 2008).

**Tableau n°3** : Effets du plomb sur les activités d'enzymes intervenant dans différents processus métaboliques (modifié d'après Sharma et Dubey, 2005).

**Tableau n°4** : Effets du plomb sur la concentration en éléments minéraux des parties aériennes et racinaires (Pourrut, 2008).

**Tableau n°05** : Propriété physico-chimique du substrat utilisé.

**Tableau n°6** : L'activité des  $\alpha$ -amylases exprimée en quantité de maltose produite (mg/g) au niveau des graines des deux géotypes de *Vicia faba* exposés au plomb.

**Tableau n°7** : L'analyse de la variance de la longueur de la radicule.

**Tableau n°8**: longueur de la radicule en (mm) des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°9** : probabilité «  $p$  » de l'analyse de la variance des paramètres physiologiques des deux géotypes étudiés.

**Tableau n°10** : Teneur en eau relative (RWC) dans les feuilles des deux Géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°11** : Teneur en eau relative (RWC) dans les feuilles des deux Géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°12** : Potentiel osmotiques en Kpas des les feuilles des deux Géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°13** : Potentiel osmotiques en Kpas des les feuilles des deux Géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°14**: Taux de chlorophylle A en mg/g des feuilles des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°15**: Taux de chlorophylle A en mg/g des feuilles des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°16:** Taux de chlorophylle B en mg/g des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°17:** Taux de chlorophylle B en mg/g des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 2000). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°18:** Taux de la chlorophylle A+B en mg/g des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°19:** Taux de la chlorophylle A+B en mg/g des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°20:** Taux des caroténoïdes en mg/g des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°21:** Taux des caroténoïdes en mg/g des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°22:** Teneur en sucres solubles en  $\mu\text{g/g}$  dans les feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°23:** Teneur en sucres solubles en  $\mu\text{g/g}$  dans les feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°24 :** Taux des protéines totales en % de la matière sèche de la graine des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0. 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type (  $X \pm S$ ) avec  $N=3$ , suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°25 :** Taux des protéines totales en % de la matière sèche de la graine des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0. 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°26:** Teneur en proline en  $\mu\text{g/g}$  dans les feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°27 :** Teneur en proline en µg/g dans les feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°28 :** Poids sec de la partie racinaire en (g) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°28 :** Poids sec de la partie racinaire en (g) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°29 :** Poids sec de la partie racinaire en (g) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°30 :** Poids sec de la partie aérienne en (g) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°31 :** Poids sec de la partie aérienne en (g) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°32 :** L'analyse de la variance des paramètres physiologiques des deux génotypes étudiés.

**Tableau n°33 :** La surface foliaire en Cm<sup>2</sup> des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n° 34:** Nombre de feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°35:** Nombre de feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type (  $X \pm S$ , suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°36:** Nombre de gousses des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°37:** Nombre de gousses des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°38 :** Hauteur de la tige en Cm des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°39 :** Hauteur de la tige en Cm des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°40:** Longueur racinaire en Cm des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°41:** Longueur racinaire en Cm des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°42:** Volume racinaire en ml des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°43:** Volume racinaire en ml des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type (  $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°44:** L'analyse de la variance du nombre des faisceaux cribro-vasculaires.

**Tableau n°45:** Nombre des faisceaux cribro-vasculaires des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°46:** Nombre des faisceaux cribro-vasculaires des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°47:** L'analyse de la variance de la distance entre les faisceaux cribro-vasculaires.

**Tableau n°48:** Distance entre les faisceaux cribro-vasculaires ( $\mu\text{m}$ ) des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°49:** Distance entre les faisceaux cribro-vasculaires ( $\mu\text{m}$ ) des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°50:** L'analyse de la variance du diamètre du méta-xylème.

**Tableau n°51:** Diamètre du méta-xylème ( $\mu\text{m}$ ) des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°52:** Diamètre du méta-xylème ( $\mu\text{m}$ ) des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°53:** L'analyse de l'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques.

**Tableau n°54:** L'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermique ( $\mu\text{m}$ ) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

**Tableau n°55:** L'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermique ( $\mu\text{m}$ ) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

- ❧\* LISTE DES ABREVIATIONS \* ❧-

A470 : absorbance à 470 nm.	FT : facteur de translocation.
A645 : absorbance à 645 nm.	FW: fresh weight (masses fraîche).
A663 : absorbance à 663 nm.	g : gramme.
ABA : acide abscissique.	g/kg : gramme par kilogramme.
ADN : adénosine désoxyribose nucléique.	GSH : glutathion réduit.
ALAD : -aminolevulinate déshydratase.	GTP: Guanine triphosphate.
ATP : adénosine triphosphate.	h : heure.
av. JC : avant Jésus Christ.	HPL : hydroperoxydes lipidiques.
BRGM : Bureau de Recherche Géologiques et Minières.	I.T.G.C : institut technique des grandes cultures.
CEC : capacité d'échange cationique.	kt/an : Kilotonnes par an.
Chlr.a : chlorophylle a.	LR : longueur racinaire.
Chlr.a+b : chlorophylle a+b.	M : mole.
Chlr.b : chlorophylle b.	Meq/100g : milliéquivalent par cent grammes.
Cm : centimètre.	MF : matière fraîche.
Cm <sup>2</sup> : centimètre carré.	mg.kg <sup>-1</sup> : milligramme par kilogramme
CNT : centre national de toxicologie.	mg/g : milligramme par gramme.
CO <sub>2</sub> : bioxyde de carbone.	ml : millilitre.
CRTN : caroténoïdes.	mm : millimètre.
D.1 : dose une (témoin).	mn: minute.
D.2 : dose deux.	MOS : matière organique du sol.
D.3 : dose trois.	MS : matière sèche.
DOC : Dissolved Organic Carbon.	Mt.an-1 : millions de tonnes par an.
DW: dry weight (masses sèche).	Nbr.F : nombre de feuilles.
EDTA : Acide Ethylène DiaminoTétraacétique.	Nbr.G : nombre de gousses.
Eh : potentiel d'oxydoréduction.	nM : nanomole.
ETM : éléments traces métalliques.	nm: nanomètre.
FBC : facteur de bioconcentration.	OMS : organisation mondiale de la santé.
FPGN : fond pédo-géochimique naturel.	p : probabilité.
	PC : phytochélatines.



pH : potentiel hydrogène.

PO, o : potentiel osmotique.

ppb, p.p.b: partie par billion (milliard).

ppm, p.p.m : partie par million.

PRLN : proline.

PRT : protéines brutes (totales).

PS PA : poids sec de la partie aérienne.

PS PR : poids sec de la partie racinaire.

ps : poids sec.

PVC : PolyVinylChlorure.

R (1-10) : répétition de un à dix.

RUBISCO : ribulose 1,5 bisphosphate  
carboxylase/oxygénase.

RWC : relative water content, contenu  
relatif en eau.

SF : surface foliaire.

-SH : groupement thiol (ou sulfhydryle).

SS : sucres solubles.

t.an<sup>-1</sup> : tonne par an.

t1/2 : temps de demi-vie.

TW: turgescence weight (masses  
turgescence).

U.S.D.A : United States Department of  
Agriculture.

V1 : génotype Sidi Aïch.

V2 : génotype Super Aguadulce.

VR : volume racinaire.

# **Introduction Générale**

Un des problèmes majeurs en environnement est la contamination de l'atmosphère, des eaux et des sols par les métaux lourds. Ces métaux ne peuvent pas être biodégradés et donc persistent dans l'environnement pendant de longues périodes.

Le plomb figure parmi ces polluants métalliques. Il affecte les différents compartiments biotiques et abiotiques de l'environnement. Sa teneur moyenne dans la croûte terrestre est de 0,002% (36ème élément), et est présent dans la plupart des roches mères. La présence naturelle du plomb dans le sol est essentiellement due à sa mise en disponibilité par les processus d'altérations chimiques (Cecchi, 2008).

Les teneurs naturelles du Pb total dans le sol varient de quelques traces (sols des régions tropicales) à quelques centaines de ppm (1200 ppm cas des sols podzoliques de Canada). Les sols des régions arides et semi arides contiennent moins de plomb (traces-15 ppm). Les valeurs moyennes naturelles du plomb total dans les sols sont entre 15-20 ppm, (Aubert et Pinta ; 1977).

L'héritage à partir du fond pédo-géochimique est l'une des principales voies de la contamination naturelle par le plomb. Les transferts pédologiques verticaux sous l'action du climat et les différentes dérivations des cycles biogéochimiques, l'ont d'un degré moins, aux quelles s'ajoutent les apports diffus aériens d'origine lointaine ; les poussières libérées par l'activité volcanique ; les embruns maritimes et les vents lointains. Ces apports ont une importance non négligeable sur le long terme (Migeon, 2009).

A ce jour la principale source de contamination en plomb sont les rejets anthropiques. Ils proviennent principalement de l'utilisation des carburants d'origine fossile complétés en plomb, l'exploitation des mines, les anciennes peintures à base de plomb, les rejets urbains et industriels et les canalisations en plomb (Sharma et Dubey, 2005).

En Algérie et en absence de réelles données sur l'ampleur de la pollution en plomb et de sa répartition à travers les différents compartiments de l'environnement (atmosphère-sol-eau), l'émission atmosphérique est la source majeure de cette pollution, due essentiellement au trafic routier qui évolue à un rythme inquiétant, mais aussi à l'utilisation de l'essence plombée (Rif, 2009). Selon le Programme des Nations Unies pour l'Environnement in planète info (2005), l'Algérie figure parmi les pays qui jusqu'ici ne prévoient pas encore l'élimination de l'essence au plomb (Maizi et *al.*, 2010).

Parmi les différents polluants qui induisent des risques pour la santé et l'environnement, le plomb est l'un de ceux qui se trouve le plus souvent dans les milieux contaminés. Potentiellement toxique pour les organismes vivants, il peut induire une dégradation de l'activité biologique (Dumat et *al.*, 2006) et de la qualité des eaux et des plantes, même à faible concentration (Sahi et al. 2002). Chez l'homme, le plomb peut induire des effets délétères (impact sur le tractus gastro-intestinal, les reins et le système nerveux central, pertes de mémoire, nausées, insomnie et anorexie, effet cancérigène potentiel) en particulier sur la santé infantile (OMS, 1994).

Des études récentes en Algérie menées en collaboration entre l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et le Centre National de Toxicologie (CNT) ont révélé des taux alarmants de plombémie (taux de Pb dans le sang), 116 µg/l en moyenne pour la population d'Alger contre 60µg/l pour la France et 30 µg/l pour les Etats-Unis (Rif, 2009).

Dans le sol le plomb est peu mobile et bio-disponible, son comportement dépend à la fois de sa dynamique propre (spéciation) et aussi des conditions régnantes résultantes des caractéristiques pédologiques et physicochimiques du sol (Baize, 1997). Les interactions entre les différents constituants des sols (argiles, matières organiques et oxydes) modifient aussi la capacité individuelle de chacun des constituants à adsorber ou complexer le métal. Il peut être soit sous forme liée aux particules de sol soit dans la phase aqueuse. De plus, la forme chimique initiale et la teneur en polluant ont une influence sur son comportement dans l'environnement.

Les plantes peuvent absorber le plomb à partir des racines, mais également à partir des organes aériens, ou bien par l'intermédiaire des deux. Les quantités de métal absorbées par les racines dépendent de la concentration et de la spéciation du métal dans la solution du sol, mais également de ses capacités de migration du sol vers la surface des racines. La quantité de plomb présente dans les divers organes d'une plante dépend du transport de l'extérieur des racines vers l'intérieur, puis de sa translocation des racines vers les feuilles (Patra et *al.*, 2004 ; Arshad et *al.*, 2008).

Bien que les plantes aient de nombreux systèmes de détoxification pour limiter l'interaction des métaux potentiellement toxiques avec des molécules biologiques, ces métaux entraînent souvent des effets néfastes pour les organismes. Considéré comme contaminant strict ou physiologiquement non utile (Tremel-Schaub et Feix , 2005), le plomb accumulé dans les tissus est toxique pour la plupart des plantes, conduisant à des

diminutions de la germination, de l'allongement racinaire, de la biomasse, et une inhibition de la biosynthèse chlorophyllienne (Sharma et Dubey, 2005; Brunet et al. 2009; Piotrowska et al., 2009; Singh et al., 2010). La présence de plomb dans les plantes induit également la production d'espèces réactives de l'oxygène qui perturbent le statut redox des cellules, causant un stress oxydant (Pourrut et al., 2008; Yadav, 2010).

Pour évaluer l'impact du plomb bio-disponible et l'évaluation de ses effets et ses risques liés à sa présence dans le sol sur le développement du végétal, une approche biologique est réalisée, basée sur l'étude de l'effet engendré par un stress métallique sur le comportement morphologique physiologique biochimique et anatomique de la fève (un modèle végétal reconnue comme plante sentinelle dans les études éco-toxicologique). L'étude entreprise concerne l'application de différentes doses de plomb sous forme  $Pb(NO_3)_2$ , dans le substrat de culture, au cours des différentes phases de développement de deux génotypes de fève. Les réactions des plants issus de cette variabilité, mesurant l'impact et la manifestation des mécanismes d'adaptation, sont représentées par des paramètres d'ordres différents, mopho-physiologiques, biochimiques et structuraux.

Le travail réalisé est présenté selon trois parties. Dans une première sont exposées les données bibliographiques traitant le thème abordé. Dans la seconde partie, figurent, une caractérisation du matériel végétal utilisé, les modes de sa conduite ainsi les méthodes de mesures employées. Enfin, une dernière partie regroupe les résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

# **Chapitre I :**

# **Revue Bibliographique**

## 1. Le plomb comme polluant environnemental.

### 1.1. Histoire de l'utilisation du plomb

Le plomb est un métal connu depuis plus de 5000 ans. Il était déjà utilisé en Egypte dans la poterie, autour de 3000 ans av. JC. Sous l'empire romain, le plomb était utilisé pour la fabrication de canalisations, la production de monnaie, l'oxyde de plomb étant employé comme pigment. Ensuite son utilisation a été largement répandue aux XIX<sup>ème</sup> et XX<sup>ème</sup> siècles, sa production atteignant 1 Mt.an-1 à l'ère industrielle (BRGM, 2004). Pendant la première moitié du XX<sup>ème</sup> siècle, le plomb a été utilisé dans l'industrie, l'imprimerie et les peintures. Dans la seconde moitié du siècle, l'utilisation dominante était liée aux carburants automobiles, le plomb étant ajouté dans l'essence comme antidétonant (Cecchi, 2008).

Depuis les années 1970, le développement de nouvelles technologies ainsi que la prise en compte des problèmes environnementaux, ont conduit à la diminution ou à l'arrêt de certaines utilisations du plomb (canalisations, soudure, peinture, pesticides, anti-détonnant dans l'essence...). Actuellement, la consommation de plomb continue de diminuer, sa principale utilisation étant dans les piles et les batteries.

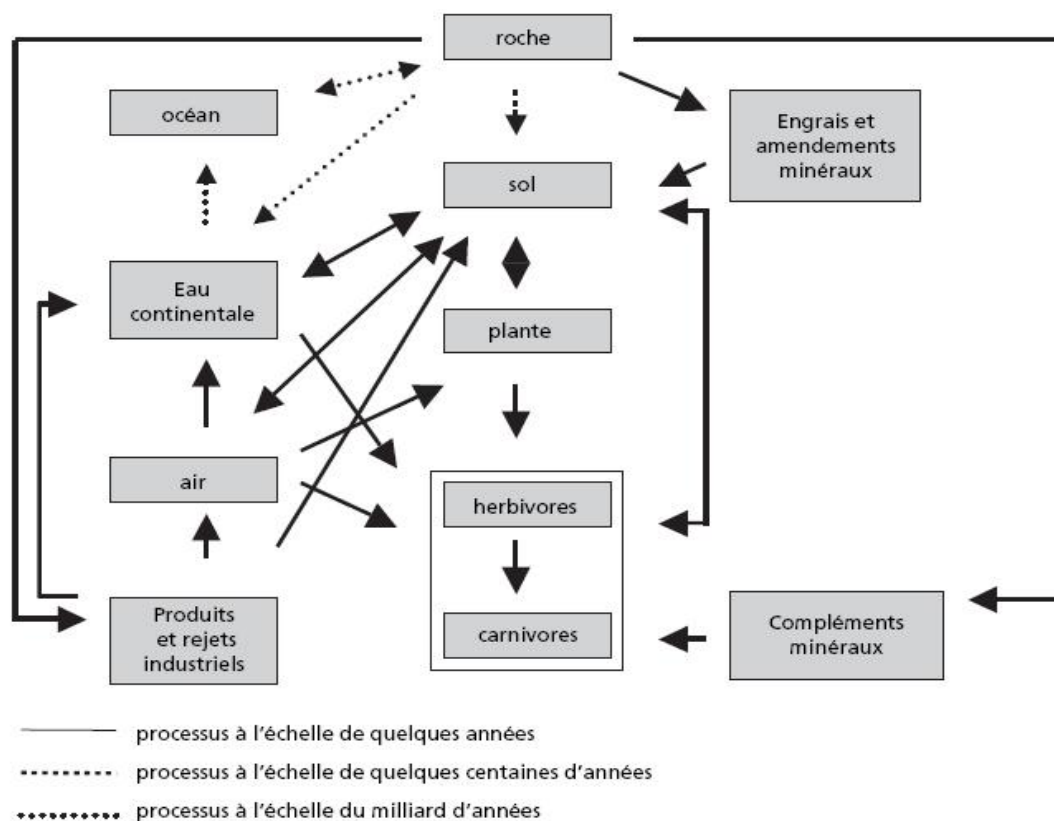
Depuis les années 80, la production primaire de plomb diminue (Tab.1), et en même temps, le plomb déjà utilisé est de plus en plus recyclé. En 2000, alors que la production mondiale totale de plomb raffiné s'élevait à 6,57 millions de tonnes, seulement 2,96 étaient extraits des mines. Plus de la moitié provient du recyclage de ce métal.

**Tableau n°1** : Evolution de la production primaire de plomb de 1975 à 2003 (kt/an) (Cecchi, 2008).

Pb	1975	1980	1985	1990	1999	2003
	3432	3448	3431	3367	3010	2850

### 1.2. Cycle biogéochimique

Le plomb retrouvé dans l'environnement comme tout autre élément trace provient à la fois de sources naturelles et anthropiques. Le métal est présent dans le sol, mais également dans tous les autres compartiments de l'environnement : eau, air et même les êtres vivants (Fig.1).



**Figure n°1** : cycle biogéochimique des ETM adapté selon Lamand, (1991) (Tremel-Schaub et Feix, 2005).

Le plomb a une teneur moyenne dans la croûte terrestre de 0,002% (36ème élément), et est présent dans la plupart des roches mères. La présence naturelle du plomb dans le sol est essentiellement due à sa mise en disponibilité par les processus d'altérations chimiques. En quantité plus faible, le plomb peut être libéré dans l'atmosphère lors de l'activité volcanique ou lors de feux de forêt, et être déposé sur les sols par des retombées atmosphériques. En l'absence de toute action anthropique, les teneurs naturelles du Pb total dans le sol varient de quelques traces (sols des régions tropicales) à 1200 ppm (sols podzoliques de Canada). En moyenne ces valeurs sont entre 15-20 ppm (Aubert et Pinta ; 1977). Dans le cas d'anomalies géochimiques, cette teneur peut atteindre plus de 3000 ppm, en présence de sites industriels (Cecchi, 2008).

Les activités anthropiques sont à l'origine d'un flux de plomb très important pouvant conduire à des contaminations locales aiguës. Ce flux représentait, en 1980, 332 000 t.an<sup>-1</sup> contre 12 000 t.an<sup>-1</sup> d'origine naturelle (Nriagu, 1990). Le rapport parlementaire du sénateur Miquel (Miquel, 2001) met en évidence que l'enrichissement moyen annuel en plomb des terres émergées, à l'échelle de la planète, s'effectue en grande partie via les retombées atmosphériques (68%). Toutefois, dans les pays industrialisés, la part des



émissions atmosphériques, dans les pollutions au plomb, a fortement diminué (Pourrut, 2008). Cette diminution s'explique notamment par l'application du protocole d'Aarhus, et surtout par l'interdiction du plomb dans l'essence.

Le plomb est un élément réputé peu mobile par rapport à d'autres métaux en traces tel que le cadmium (Bourrelier et Berthelin, 1998). Son cycle biogéochimique dépend des caractéristiques physico-chimiques du sol. Le plomb tend à former des complexes particulièrement stables. En conséquence, il va être stocké en grande partie dans le sol. Toutefois, une fraction mobile peut être absorbée par les organismes vivants (micro- et mésoorganismes du sol, végétaux) et rentrer ainsi dans la chaîne alimentaire. Une petite partie de ce plomb peut également être entraînée dans les rivières et les lacs, lors du processus d'érosion qui arrachent les particules de sol liées au plomb et les entraînent par ruissellement vers les hydrosystèmes de surface. Ariès (2001) a mis en évidence un flux de plomb des eaux interstitielles vers le sédiment, démontrant ainsi que le plomb reste majoritairement piégé dans le sédiment.

### 1.3. Propriétés physico-chimiques du plomb

Le mot plomb provient du latin *Plombum*, habituellement trouvé en petite quantité dans la croûte terrestre. Il appartient au group IV b de la classification périodique des éléments. Ses principales propriétés physico-chimiques sont présentées dans le tableau n°2. De configuration électronique [Xe] 4f14 5d10 6s2 6p2, il possède 2 électrons non appariés sur la dernière couche. Cette configuration électronique autorise les degrés d'oxydation (+2) et (+4), en plus de la forme métal (0) (Alloway, 1995).

**Tableau n°2** : Principales propriétés physico-chimiques du plomb (Pourrut, 2008).

Symbole	Pb
Numéro Atomique	82
Masse atomique	207,2 g.mol <sup>-1</sup>
Point de fusion	327°C
Point d'ébullition	1740°C
Densité	11,35
Configuration électronique	[Xe] 0, +2, +4 4f14 5d10 6s2 6p2
Valence	0, +2, +4
Rayons ioniques	
Pb <sup>2+</sup>	0,94 à 1,49 Å
Pb <sup>4+</sup>	+ 0,78 à 0,94 Å

Dans le milieu naturel, le plomb peut être rencontré sous la forme de 4 isotopes stables : 204Pb, 206Pb, 207Pb et 208Pb dont les pourcentages d'abondance sont respectivement 1,48%, 23,6%, 22,6%, 52,3%. 204Pb est la forme non radiogénique et les 3

autres espèces font partie des formes finales et stables du schéma de désintégration de l'uranium et du thorium. Il possède aussi deux isotopes radiogéniques,  $^{210}\text{Pb}$  ( $t_{1/2}=22$  ans) et  $^{212}\text{Pb}$  ( $t_{1/2}=10$  ans) (Cecchi, 2008).

#### **1.4. Origines des pollutions par le plomb**

Les pollutions de l'eau, de l'air et du sol par le plomb peuvent être dues à des sources naturelles ou anthropiques.

##### **1.4.1. Origines naturelles**

Le phénomène majeur intervenant dans le fond pédo-géochimique FPGN est l'héritage reçu de la roche mère. En effet, selon la composition chimique initiale de la roche à partir de laquelle il s'est formé, un sol sera plus ou moins riche en oligo-éléments et en métaux lourds. Les roches sont très variées à la fois par leur faciès lithologique (granites, gneiss, grès, craies, schistes...) et par leur composition chimique (Baize, 1997; 2002).

Un autre phénomène intervenant dans la constitution du FPGN est le cycle biogéochimique dans les sols et dans les plantes. Les éléments sont absorbés par les racines des plantes et sont transloqués vers les organes aériens de la plante. En fin de cycle les éléments retournent ensuite dans le sol par décomposition des racines et des parties aériennes. Ce cycle peut être rompu lorsque les récoltes sont exportées (Migeon, 2009).

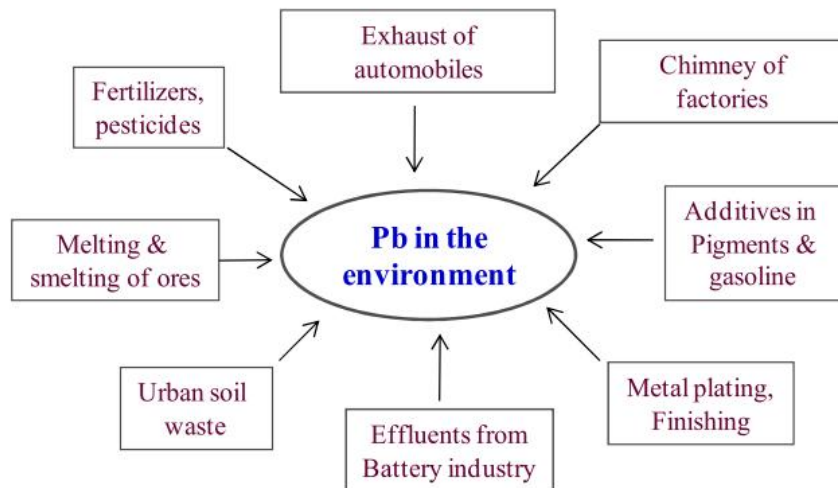
Le troisième phénomène qui intervient correspond aux transferts pédologiques verticaux. Sous climat où la précipitation l'emporte sur l'évapotranspiration végétale, on assiste au lessivage des sols et les métaux lourds peuvent alors migrer vers les horizons profonds. Les formes solubles peuvent également migrer vers les nappes phréatiques. Les transferts pédologiques peuvent également se faire latéralement (Migeon, 2009).

Parmi les apports diffus aériens d'origine lointaine se trouvent les poussières libérées par l'activité volcanique, les embruns maritimes et les vents lointains. Ces apports ont une importance non négligeable sur le long terme (Migeon, 2009).

##### **1.4.2. Origines anthropiques**

A ce jour, les principales sources de contaminations en Pb sont les rejets anthropiques (Fig.2). Ils proviennent principalement des industries qui extraient et purifient le Pb naturel et qui recyclent les composants contenant du Pb comme les batteries, et leurs retombées atmosphériques contaminent les sols. A ceci s'ajoute les déchets industriels et la détérioration des peintures extérieures à base de Pb. Des rejets provenant des industries

sidérurgiques ainsi que les réseaux de canalisations de distribution d'eau anciennes, contenant du Pb, contaminent les eaux (Migeon, 2009). Dans les sols des concentrations en Pb supérieures à 110 ppm de sol traduisent l'existence d'une source polluante à proximité (Juste et al., 1995).



**Figure n°2** : Sources anthropiques de la pollution en plomb (Sharma et Dubey, 2005).

Les apports anthropiques de Pb résultent de cinq groupes d'activités (Baize, 1997) :

- Les sources principales sont liées à l'utilisation de composés organométalliques comme antidétonnants dans les moteurs à explosion. Le métal est alors rejeté par les gaz d'échappement.
- Les sources industrielles : libération de Pb par les usines de traitement du minerai ou lors de recyclage des batteries.
- Les déblais des mines et les poussières des crassiers.
- Les boues de stations d'épuration.
- Certains pesticides étaient fabriqués à base de Pb.

## 2. Le plomb et l'homme

Le Pb n'est pas un élément essentiel pour l'homme. Le Pb et ses composés minéraux peuvent provoquer une intoxication connue sous le nom de saturnisme (Tremel-Schaub et Feix, 2005).

### 2.1. Les voies d'introduction

Trois modes d'introduction sont à retenir (Tremel-Schaub et Feix, 2005) :

- C'est surtout par la voie digestive que le Pb et ses composés pénètrent dans l'organisme, soit avec les aliments, soit avec les boissons et notamment avec l'eau.
- La voie respiratoire est également importante, surtout s'il s'agit d'oxydes ou de sels pulvérulents, de poussières très fines ou de vapeurs.
- L'absorption cutanée, qui est minime, est quand même possible quand la peau est lésée ou pour certains composés organiques du Pb (du fait de leur liposolubilité).

### 2.2. La toxicité du plomb

Le Pb absorbé est habituellement éliminé par les voies naturelles. Toutefois, une certaine partie peut s'accumuler dans les viscères ou dans les os. Cela expliquerait les cas pathologiques retardés, cas qui se manifesteraient lorsque le Pb ainsi stocké pénètre à nouveau dans le cycle biologique.

La toxicité des composés du Pb est en rapport avec leur plus ou moins grande hydrosolubilité. Par ordre de toxicité décroissante, on trouve : le nitrate, le chlorure, l'acétate, le minium, le carbonate, le sulfure, le phosphate. Le Pb serait plus toxique lorsqu'il est pris avec de l'eau de boisson, qu'en mélange avec les aliments. Les enfants, les femmes et les insuffisants rénaux sont particulièrement sensibles à sa toxicité.

Le Pb, en perturbant la biosynthèse de l'hémoglobine, conduirait à une production plus faible d'hémoglobines, représentant l'une des causes de l'anémie observée dans le saturnisme. Il présente également une toxicité au niveau de l'érythrocyte et au niveau du rein (il provoque des néphropathies, avec comme conséquences l'élévation de l'azotémie, de l'uricémie, la diminution de la clairance de la créatinine, l'apparition d'une protéinurie, etc.).

#### 2.2.1. Intoxication aiguë

Elle se caractérise surtout par un violent syndrome gastro-intestinal : douleurs abdominales, coliques (« coliques de Pb », « coliques du miserere »), vomissements, diarrhée, soif. Apparaissent ensuite progressivement des troubles nerveux, avec agitation,

convulsions, faiblesse musculaire, paralysie des extrémités, etc. Le rein est atteint sous forme d'une néphrite hématurique, avec parfois anurie. La mort peut survenir par suite d'un collapsus cardiovasculaire.

### 2.2.2. Intoxication chronique

L'intoxication chronique évolue généralement en deux phases : le pré-saturnisme et le saturnisme confirmé.

**Pré-saturnisme:** un liseré saturnin ou liseré de Burton en est un des signes. La faiblesse, voire la paralysie, des muscles extenseurs de la main et des petits muscles des doigts est un autre signe (le malade présente le symptôme de la « main en griffe »).

Les troubles hématologiques se manifestent par :

- une anémie, relativement peu importante,
- une baisse du taux d'hémoglobines,
- l'apparition possible d'hématies « ponctuées »,
- la présence de Pb dans le sang et l'urine,
- les différentes perturbations de la biosynthèse de l'hémoglobine.

**Saturnisme confirmé :** surviennent ensuite, au cours d'une deuxième phase :

- des troubles de l'état général (malaises, fatigue, anorexie, amaigrissement),
- des troubles gastro-intestinaux (vomissements, douleurs abdominales, coliques, voire constipation),
- des troubles nerveux, à type d'encéphalopathie et surtout chez l'enfant : céphalées, irritabilité, torpeur intellectuelle, pouvant entraîner des retards scolaires et des retards de développement, convulsions, paralysie et coma,
- des troubles rénaux, à type de néphropathie avec oligurie, insuffisance rénale fréquemment associée à l'apparition de goutte et perturbation de paramètres biologiques. Le taux d'urée sanguine doit être systématiquement surveillé chez les sujets exposés au Pb.

L'intoxication saturnine peut encore être responsable d'une hypertension artérielle, d'une augmentation de l'incidence de fausses couches, des accouchements prématurés et de la foetotoxicité. L'éthylisme chronique est un facteur aggravant de saturnisme.

Les enfants de moins de 6 ans sont plus sensibles à la toxicité du Pb que les adultes. Le Pb est toxique pour le système nerveux et a des conséquences sur le comportement et le quotient intellectuel des enfants touchés (OMS, 1994).

Le chromate de Pb figure parmi les substances soupçonnées d'avoir une action cancérogène sur l'homme.

### 3. Le plomb dans le sol

Le plomb est un élément minéral naturellement présent dans la croûte terrestre, son origine dans les sols étant liée à sa présence dans la roche mère. Ceci peut cependant conduire parfois à des teneurs sensiblement plus élevées dans certains gisements. Mais, ce sont surtout les dépôts continus de métaux et métalloïdes par les activités humaines qui ont conduit à leur accumulation (Cecchi, 2008).

Le comportement du plomb dans un sol dépend de différents facteurs comme sa dynamique propre mais également des caractéristiques pédologiques et physico-chimiques du sol (Baize, 1997). Il peut être soit sous forme liée aux particules de sol soit dans la phase aqueuse. Dans les sols contaminés, la forme chimique initiale et la teneur en polluant apportée ont également une influence. En effet, de nombreux travaux ont montré que la spéciation avait une influence sur le devenir des éléments traces métalliques (ETM) dans l'environnement (Hinsinger et Gilkes, 1996 ; Dumat *et al.*, 2001 ; Ferrand *et al.*, 2006).

#### 3.1. Associations avec les différents constituants du sol

Les interactions entre le métal et le sol dépendent des caractéristiques physico-chimiques du sol (pH, Eh, nature et proportions des argiles, matières organiques et oxydes, etc.)

##### 3.1.1. Interactions avec les oxydes de fer et de manganèse

Les oxy et hydroxydes de fer et de manganèse montrent une affinité particulière pour les éléments traces. Des phénomènes d'échange et d'adsorption spécifique peuvent conduire à des accumulations de quantité relativement fortes d'éléments traces (Cecchi, 2008).

Sparks (1995) établit une échelle de sélectivité des cations métalliques divalents pour différentes formes de fer. Le plomb se trouve parmi les éléments qui ont la plus forte affinité pour les formes cristallisées de fer aussi bien que pour les formes amorphes. Deux types de mécanismes sont évoqués pour expliquer l'association du plomb avec le fer. Il peut se substituer au fer dans le réseau cristallin de l'oxyde lors de sa cristallisation (co-précipitation avec les oxydes de fer), ou bien être fixé à la surface des cristallites de ces mêmes oxydes (adsorption et précipitation en surface). Une fois adsorbés, certains ions sont également capables de diffuser vers l'intérieur du cristal afin de rejoindre des cavités au sein du réseau cristallin (absorption) (Cecchi, 2008).

### 3.1.2. Interactions avec les argiles

Les argiles possèdent une forte réactivité chimique et physique, ainsi qu'une importante surface de contact. Elles peuvent développer de grande surface spécifique, et peuvent fixer les métaux par 3 mécanismes principaux : l'échange ionique, l'adsorption physique et l'adsorption chimique (Alloway, 1995). Li et Li (2000) montrent, qu'un sol riche en illite adsorbe plus de plomb qu'une kaolinite et ils attribuent ce résultat aux différences de charge de surface entre la kaolinite et l'illite. Parmi les minéraux argileux, on compte aussi la vermiculite qui présente une forte affinité pour les réactions d'échange avec le plomb (Rickard et Nriagu, 1978).

### 3.1.3. Interactions avec les carbonates et les phosphates

Ce type d'associations se produit le plus souvent lorsque les métaux quittent la solution du sol pour précipiter au sein des phases minérales (Diyab, 2005). Les carbonates jouent un rôle important dans les sols. Leurs équilibres de dissolution contrôlent particulièrement le pH. Une teneur élevée en carbonates rend le sol alcalin. La surface des carbonates est le siège de phénomènes de sorption des ions métalliques. Cependant, au-delà de l'adsorption de surface, il peut aussi se produire une incorporation des cations métalliques dans la maille cristalline des carbonates (Bourg et *al.*, 1988).

D'autres associations sont possibles avec les phosphates. Nriagu (1984) démontre que la chloropyromorphite ( $Pb_5(PO_4)_3Cl$ ) est un minéral très peu soluble, et qu'elle est capable de fixer le plomb dans les sols. La présence du plomb dans les sols riches en phosphates favorise la formation des minéraux qui diminuent sa mobilité, et également sa phytodisponibilité (Sarret et *al.*, 2001 ; Diyab, 2005).

### 3.1.4. Interactions avec les matières organiques du sol (MOS)

De nombreux travaux ont permis de mettre en évidence l'affinité des ETM pour les MOS (Morin et *al.*, 1999 ; Lamy, 2002 ; Dumat et *al.*, 2006 ; Migeon, 2009). Cette affinité se traduit par des réactions d'absorption, qui sont contrôlées par des complexes de sphère interne ou externes ou bien par des mécanismes d'échanges ionique (Evans, 1989 ; Kinniburgh et al, 1996). Les métaux se complexent à des matières organiques de poids moléculaires variables (Stevenson, 1982), par exemple aux substances humiques (Hatira et *al.*, 1990 ; Tipping et *al.*, 1995) par l'intermédiaire des groupements fonctionnels (Alloway, 1995). La lignine est un composé parmi les plus persistants dans le sol, qui possède également une capacité de fixation des métaux. Enfin, d'autres matières

organiques peuvent fixer des métaux, telles que des acides organiques de faible poids moléculaire (acide acétique, oxalique..), des sucres (formation de complexes entre les métaux et les groupements hydroxyles des monosaccharides) ou des protéines.

### **3.2. La mobilité du plomb.**

La mobilité d'un élément dans le sol est son aptitude à passer d'un compartiment où il est retenu à un compartiment où il est retenu avec une énergie moindre, le compartiment ultime étant la phase liquide ou éventuellement l'atmosphère du sol (Juste, 1988) La mobilité du plomb est principalement contrôlée par sa spéciation en phase aqueuse et par des processus d'adsorption/désorption ainsi que de dissolution/précipitation. Le rôle de certains paramètres tels que le pH, le potentiel redox, la composition minéralogique du sol ou du sédiment et la présence de ligands ou de colloïdes dans la phase va être déterminant. Le plomb étant en général considéré comme un élément peu mobile dans les milieux naturels, il a donc tendance à s'accumuler dans les horizons superficiels des sols (Cecchi, 2008). Les travaux de Sterckeman et collaborateurs (2000) démontrent que le plomb est essentiellement concentré dans les 30 premiers centimètres.

#### **3.2.1. Facteurs modifiant la mobilité du plomb**

##### ***a. Le pH***

C'est le facteur qui influence le plus sur la mobilité et la biodisponibilité du plomb (Swaine, 1986). Les risques de mobilité sont plus grands dans les milieux acides, alors que la solubilité diminue avec l'élévation du pH. A pH 5, le plomb semble majoritairement adsorbé aux oxydes et aux matières organiques (Alloway, 1995), et une augmentation du pH a pour effet de rendre le plomb moins biodisponible. Zhang et Ryan (1998) remarquent que le plomb est déplacé de la fraction sulfate  $PbSO_4$  vers la pyromorphite sous l'effet du pH et en présence d'apatite. Martinez et Motto (2000) ont montré, dans différents types de sol, que la concentration des métaux dans la phase aqueuse augmentait quand le pH diminuait.

##### ***b. Le potentiel redox***

Le potentiel d'oxydoréduction (Eh) exprime le flux d'électrons des agents réducteurs vers les agents oxydants. Il est contrôlé par l'activité des électrons en solution (Sposito, 1983).

Bien que le plomb garde globalement le même état d'oxydation dans les milieux naturels, sa mobilité va néanmoins être affectée par des variations de potentiels redox du



milieu. Ces variations sont susceptibles de modifier la chimie de la phase aqueuse, pouvant entraîner des phénomènes de précipitation de minéraux contenant du plomb. A l'inverse, ces variations de potentiel redox peuvent entraîner la dissolution de phases porteuses de plomb (Cecchi, 2008). Pour le plomb, sa solubilité augmente lorsque le potentiel redox diminue (Chuang et al., 1996).

### c. *L'activité biologique*

Les principaux phénomènes d'action sur la mobilité des polluants métalliques sont la solubilisation, l'insolubilisation et la volatilisation (Remon, 2006) :

- Ñ **La solubilisation** provient de la production de composés acides tels que les acides carboxyliques, phénoliques, aliphatiques, nitrique et sulfurique. Certaines bactéries chimiolithotrophes (*Thiobacillus*, *Leptospirillum*, *Galionella*) oxydent les formes réduites du fer et du soufre contenues dans les sulfures et produisent de l'acide sulfurique, susceptible de dissoudre les silicates, les phosphates, les oxydes et les sulfures, libérant ainsi les métaux lourds contenus (Chaignon, 2001).
- Ñ **L'insolubilisation** constitue le phénomène opposé. Certains acides organiques de faible masse moléculaire, comme les acides oxalique, citrique ou fumarique qui interviennent dans la complexation intracellulaire d'éléments nutritifs, peuvent être sécrétés dans le milieu extérieur. Ils limiteraient ainsi les transferts par des processus de complexation (Baker et Walker, 1990).
- Ñ **La volatilisation** repose sur l'action directe de certains microorganismes sur le degré d'oxydation de l'espèce métallique. C'est le cas du mercure, de l'arsenic et du sélénium (Se). La biométhylation permet le transfert de groupements méthyl directement aux atomes, Pb, Sn (étain), As, Sb (antimoine) et Se, permettant leur volatilisation dans l'atmosphère.

### d. *La température*

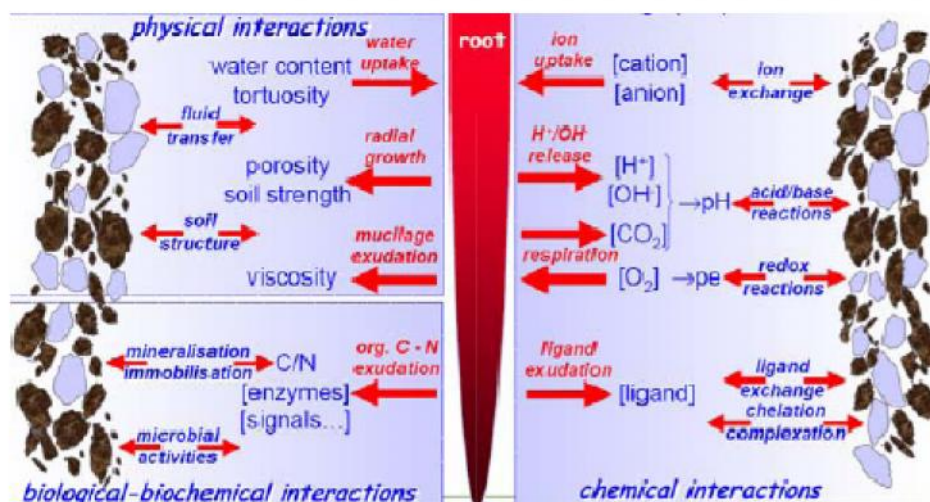
La température du sol dépend en premier lieu du climat, mais elle est également liée à l'activité biologique et influence rétroactivement la formation de complexes avec des ligands inorganiques, en modifiant l'activité de l'élément en solution (Deneux- Mustin et al., 2003). La température a un impact direct sur la mobilité des éléments métalliques en déplaçant les équilibres des réactions de dissolution - précipitation et co-précipitation, et un impact indirect, en modifiant la teneur en eau du sol, le pH ou l'Eh.

## 4. Le plomb dans le système sol-plante

Les activités urbaines, industrielles et agricoles sont responsables d'une contamination croissante des sols et de l'eau par les ions métalliques. Organisme autotrophe, la plante est totalement tributaire de son environnement minéral. Le sol lui

fournit donc la grande majorité de ses nutriments, mais elle est également directement exposée à des éléments potentiellement toxiques (Cecchi, 2008).

Les travaux cités précédemment ont montré que le plomb est très sensible au pH. Or, la plante peut modifier le milieu dans lequel elle se développe (modifications de pH, Eh, DOC, etc.) et donc peut influencer la spéciation des métaux présents dans sa rhizosphère. Une connaissance approfondie des systèmes d'acquisition racinaire des métaux ainsi que des mécanismes de résistance des végétaux permettra de comprendre comment les plantes peuvent pousser et survivre sur des zones polluées, mais également de détoxifier certains sols par la phytoextraction ou d'éviter certaines pathologies nutritionnelles en empêchant l'entrée de métaux à des concentrations toxiques dans la chaîne trophique (Fig.3) (Cecchi, 2008).



**Figure n°3:** présentation schématique de l'interaction rhizosphérique sol-plant (Hinsinger, 2004).

#### 4.1. Mécanismes d'interaction sol- plante : impact des activités racinaires

##### 4.1.1. Modification du pH

Le prélèvement des nutriments par les racines peut affecter le pH du sol. Le sens de modification induit dépend pour partie du type de prélèvement réalisé par la plante. En effet, pour maintenir leur neutralité les plantes doivent compenser leur absorption ionique par une excrétion de charges au niveau racinaire (Romheld et al., 1984 ; Lasat, 2002 ; Hinsinger, 2001).

La respiration racinaire occasionne l'augmentation de la pression partielle de  $\text{CO}_2$  dans la rhizosphère contribuant une fois encore à son acidification (Nye, 1986 ; Hinsinger, 1998). La contribution de ce dernier phénomène à l'acidification rhizosphérique est

particulièrement importante dans les sols calcaires ou dans des sols où la diffusion du CO<sub>2</sub> se fait mal (Nye, 1986).

Le pH est impliqué dans de multiples réactions se déroulant dans le sol, telles que les réactions de dissolution/précipitation ou d'adsorption/désorption, ou encore de complexation. Tous ces mécanismes peuvent donc induire la libération de certains éléments traces initialement immobilisés dans les minéraux, les changements de pH provoquant la dissolution par exemple de carbonates, d'oxydes ou de phosphates (Cecchi, 2008).

#### **4.1.2. Modification des concentrations ioniques dans la rhizosphère**

Le prélèvement d'eau et d'éléments nutritifs en solution entraîne une modification des concentrations en ions dans la solution du sol au niveau de la rhizosphère (Hinsinger, 2001). Cela est surtout vrai pour les macroéléments que les plantes absorbent en plus grande quantité que les oligoéléments (Cecchi, 2008).

#### **4.1.3. Exsudation d'acides organiques dans la rhizosphère**

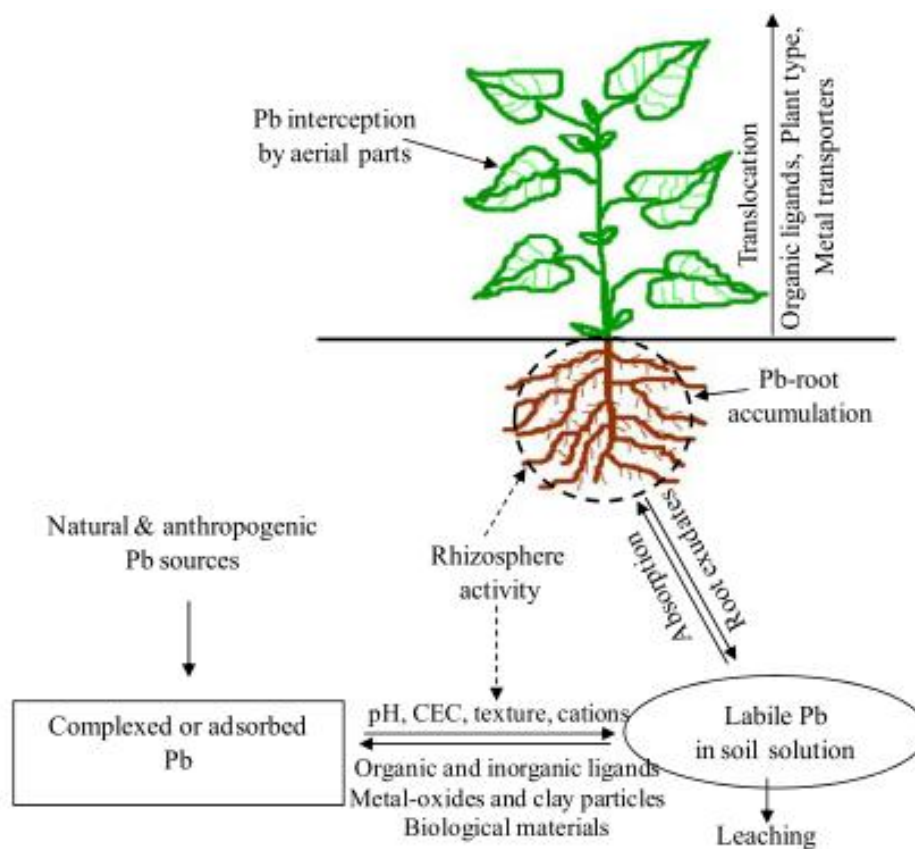
L'exsudation de composés organiques par les racines est un phénomène important. De natures différentes, ces exsudats peuvent être des mucilages, des aminoacides, des peptides et des acides organiques excrétés par les racines dans la rhizosphère (Morel, 1997). Leurs natures varient selon les espèces végétales, l'association avec des microorganismes, et les conditions de croissance de la plante (Kabata-Pendias et Pendias, 1992). Ces exsudats racinaires entrent en jeu dans :

- La nutrition de la plante : ils influencent la mobilité des éléments nutritifs dans le sol
- La régulation du développement de la plante. En outre, ils favorisent les associations plantes/microorganismes du sol (par exemple les bactéries symbiotiques fixées sur les racines des légumineuses).
- La protection des zones apicales des racines grâce aux mucilages
- L'amélioration des contacts sol-plantes
- La modification des conditions physico-chimiques de la rhizosphère (force ionique, concentration en carbone organique dissous, pH et potentiel redox).

L'excrétion de ces acides peut être la conséquence d'une carence en élément essentiel (Jones, 1998) ou bien un moyen défensif contre la toxicité d'un élément. Ils ont la capacité de complexer les métaux et également d'augmenter la mobilité du fer, du manganèse, du cuivre, du plomb et du zinc (Mench et *al.*, 1988 ; Marschner, 1995 ; Jones, 1998). Ces composées ont, outre les éléments nutritifs, la capacité de complexer d'autres nutriments, en particulier les métaux traces comme le plomb.

## 5. Le plomb dans la plante

Les plantes peuvent absorber du plomb à partir des racines, mais également à partir des organes aériens, ou bien par l'intermédiaire des deux. Les quantités de métal absorbées par les racines dépendent de la concentration et de la spéciation du métal dans la solution du sol, mais également de ses capacités de migration du sol vers la surface des racines (Fig.4). Ensuite, la quantité de plomb présente dans les divers organes d'une plante dépend du transport de l'extérieur des racines vers l'intérieur, puis de sa translocation des racines vers les feuilles (Patra et *al.*, 2004, Arshad et *al.*, 2008).



**Figure n°4** : facteurs limitant la solubilisation du plomb dans le sol, l'absorption par les racines et la translocation vers la partie aérienne (Shahid, 2010).

### 5.1. Notion de phytodisponibilité

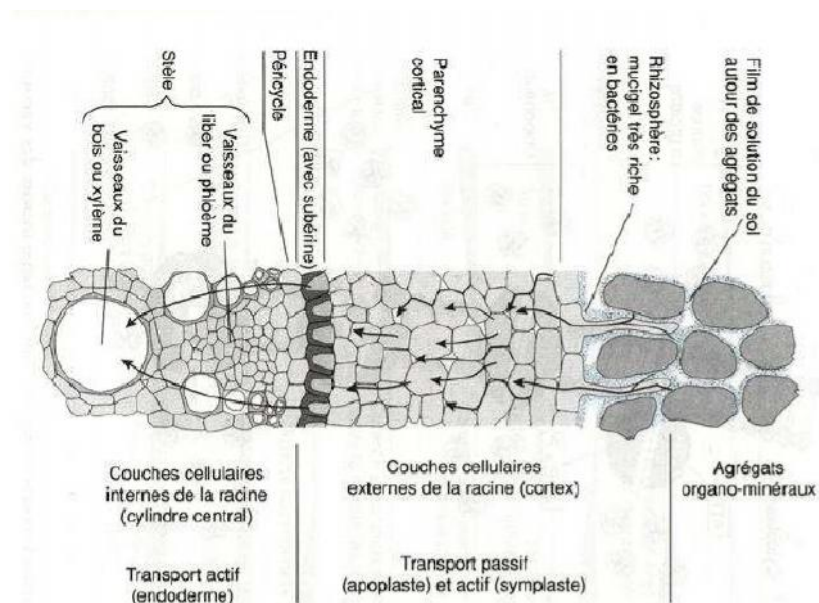
La notion de phytodisponibilité découle de la biodisponibilité, qui peut être définie comme « l'aptitude d'un élément à être transféré d'un compartiment du sol vers un organisme vivant (bactérie, végétal, animal, homme) » (Baize, 1997). Lorsque l'organisme vivant est une plante, on parle de phytodisponibilité (Tremel-Schaub et Feix, 2005). Selon Hinsinger et *al.* (2005), la partie biodisponible pour une plante est la fraction d'un élément qui est susceptible d'être absorbée par les racines. Pour Kabata-Pendias et Pendias (1992),

la phytodisponibilité des éléments traces est fortement corrélée à la concentration d'espèces ioniques dans la solution du sol. Elle est également largement dépendante des propriétés du sol, de l'espèce végétale considérée et de l'élément en question.

Selon Cecchi (2008), le meilleur outil pour mesurer la biodisponibilité des éléments en trace est l'organisme lui-même. La plante permet de révéler la phytodisponibilité des éléments en trace dans le sol. Et de déterminer la teneur en élément dans les tissus végétaux à la récolte. Les méthodes réalisées sur les plantes s'avèrent cependant très lourdes et peu réalistes lorsqu'il s'agit de réaliser un grand nombre de mesures, mais peuvent être envisagées pour des études ciblées (Cecchi, 2008).

## 5.2. Absorption

Au départ, le  $Pb^{2+}$  présent dans la solution du sol se lie aux groupements carboxyle de l'acide uronique composant le mucilage autour des racines (Sharma et Dubey, 2005). Ce mucilage permet donc de restreindre le passage du plomb à l'intérieur des cellules racinaires, et constitue ainsi une protection du système racinaire. Une fois adsorbé à la surface des racines, la voie apoplastique pourrait être une voie importante pour le plomb (Fig.5) qui peut être immobilisé par les charges négatives des parois cellulaires (espace libre de Donnan). Il aurait donc tendance à s'accumuler dans l'espace libre, étant fortement lié aux groupements carboxyliques des composés pectocellulosiques des parois. Des études ont montré que le plomb était majoritairement présent dans l'apoplaste et que seule une faible proportion pénétrait dans l'endoderme (Tung et Temple, 1996 ; Seregin *et al.*, 1998 ; Patra *et al.*, 2004).



**Figure n°5** : Coupe transversale de racine, avec le passage des ions selon les voies symplastiques et apoplastiques (Gobat *et al.*, 1998).

### 5.3. Transfert du plomb du sol vers les racines

La pénétration d'un élément dans une plante peut être évaluée par le facteur de transfert sol/plante ou également appelé facteur de bioconcentration, noté FBC. Il représente la possibilité de transfert d'un contaminant du sol vers les plantes, et il est généralement défini comme le ratio entre la concentration dans les plantes et celle dans le sol où ont poussé les plantes, et calculé comme suit (Chumbley et Unwin, 2004 ; Cui et al., 2004, Zheng et al., 2007) :  $FBC = \frac{[Pb] \text{ plante}}{[Pb] \text{ substrat de culture}}$ .

Avec les concentrations exprimées en  $\text{mg.kg}^{-1}$  et relatives aux masses sèches du sol et des plantes. Plus la plante absorbe facilement le plomb, plus le facteur de transfert est grand. Ce transfert du sol vers les plantes est fonction :

- de la nature du métal (Zheng et al., 2007),
- de la nature des plantes (de l'espèce ou du cultivar) et également de leur âge (Yoon et al., 2006),
- des caractéristiques des sols telles que le pH, la teneur en matière organique, ou la capacité d'échange cationique (Roselli et al., 2003 ; Yoon et al., 2006 ; Zheng et al., 2007). D'après Roselli et al. (2003), la mobilité des métaux et donc leur transfert est faible dans le sol, surtout si le pH ou la teneur en matières organiques sont élevés.

### 5.4. Translocation du plomb des racines vers les parties aériennes

Après l'absorption par les racines, la translocation correspond au transfert des éléments traces métalliques vers les parties aériennes. Elle peut varier considérablement en fonction du métal, mais également de l'espèce végétale. Pour être conduits vers les parties aériennes, les éléments prélevés dans le sol par les racines doivent être transportés dans le cortex puis déversés dans les vaisseaux du xylème. Ce flux d'ions métalliques dans le xylème nécessite leur chélation à des acides organiques ou à des acides aminés (Briat et Lebrun, 1999).

Pour la plupart des espèces, la majorité du plomb absorbé par les plantes réside dans les racines, et seulement une faible proportion est transloquée vers les parties aériennes. Ce transport limité des racines vers les feuilles peut être expliqué par la barrière formée par l'endoderme des racines. Les bandes de Caspary peuvent en effet être un facteur majeur limitant le franchissement de l'endoderme jusqu'au cylindre central (Seregin et al., 2004 ; Sharma et Dubey, 2005). Pour illustrer ce propos, différents auteurs ont défini un facteur de translocation (FT), qui est calculé comme suit (Mattina et al., 2003 ; Tanhan et al., 2007):  $FT = \frac{[Pb] \text{ parties aériennes}}{[Pb] \text{ racines}}$ .

### 5.5. Accumulation

Certaines plantes accumulent des quantités inhabituelles d'éléments métalliques : 100 mg/kg ps pour le cadmium, 1000 mg/kg ps pour le nickel, le cuivre et le cobalt ou encore 10000 mg/kg ps pour le zinc et le manganèse. Ces espèces sont qualifiées de plantes «hyperaccumulatrices » (*Alyssum bertolonii*, *Sebertia acuminata*, *Silene cobalticola*, *Thlaspi caerulescens*, *Brassica napus*, *Pteris vittata*) (Brooks, 1998). Près de 500 espèces hyperaccumulatrices ont déjà été recensées (Prasad et Freitas, 2003).

Chez *Armeria maritima subsp. halleri*, dans les feuilles les plus âgées, les concentrations de cuivre, cadmium, zinc et plomb sont 3 à 8 fois celles des jeunes feuilles (Dahmani-Muller et al., 1999). Leur abscission permettrait de diminuer la concentration en métaux dans les plantes.

A l'échelle cellulaire, cette accumulation résulterait d'une compartimentation des métaux dans la vacuole, grâce à plusieurs familles de transporteurs protéiques (Remon, 2006). Par exemple, un transporteur tonoplastique appartenant à la famille des protéines GTP (Guanine triphosphate) a été identifié chez un écotype de *Silene vulgaris* tolérant au zinc (Chardonnens et al., 1999). Chez *Rauwolfia serpentina*, le cadmium forme, avec les phytochélatines, des complexes de faible masse moléculaire, qui s'agrègent les uns aux autres par des ponts sulfures pour former des complexes de masse moléculaire élevée. Ceux-ci seraient alors transportés par un complexe protéique spécifique dans la vacuole. Le pH vacuolaire provoquerait la dissociation du complexe, et les ions seraient pris en charge par les acides organiques présents, tels que le malate, le citrate ou encore l'oxalate (Toppi et Gabbrielli, 1999).

### 5.6. La Toxicité du plomb

La fraction de plomb pénétrant dans le symplaste est faible et rapidement séquestrée dans les cellules. Néanmoins, elle cause une grande diversité d'effets néfastes dans les plantes. Ces effets ont déjà fait l'objet de très nombreuses travaux (Singh et al., 1997; Seregin et Ivanov, 2001; Patra et al., 2004; Sharma et Dubey, 2005).

Selon Pourrut (2008), les effets du plomb sur les plantes peuvent varier en fonction de la durée d'exposition, de l'intensité du stress, du stade de développement de la plante, des organes considérés et évidemment des espèces étudiées voire même du cultivar.

Les plantes mettent en place diverses barrières physiques pour se protéger. Tout d'abord le mucilage sécrété au niveau de la coiffe, qui a la capacité de lier le plomb et donc de gêner son adsorption aux parois cellulaires. Mais pour pouvoir pénétrer dans la racine

jusqu'au cylindre central, il doit également passer à travers la paroi cellulaire et la membrane plasmique qui possèdent de nombreux sites de fixation pour le plomb. Quand le plomb a réussi à passer à travers ces barrières de protection, il peut affecter de nombreux processus physiologiques de la plante. Les premiers effets ne provoquent pas de symptômes visibles, ceux-ci ne se manifestant qu'en cas de toxicité avancée (Cecchi, 2008).

### 5.6.1. Action sur la germination et la croissance.

Quant la plante est exposée au plomb, même à de faibles concentrations, plusieurs effets peuvent apparaître sur la germination et le développement (Kopittke et al., 2007). En premier lieu, la germination est fortement inhibée par les ions  $Pb^{2+}$  et ce, à de très faibles concentrations (Mishra et Choudhuri, 1998; Wierzbicka et Obidzinska, 1998; Tomulescu et al., 2004, Islam et al., 2007; Luan et al., 2008; Sengar et al. 2009 ; Wang et al., 2011). De plus fortes doses conduisent à une inhibition totale de la germination chez les espèces végétales, comme le haricot, dont le tégument de la graine ne limite pas assez la pénétration de ces ions (Wierzbicka et Obidzinska, 1998). Le plomb réduit également fortement le développement de la plantule et des racelles (Mishra et Choudhuri, 1998; Islam et al., 2007; Dey et al., 2007; Gichner et al., 2008; Gopal et Rizvi, 2008).

Un traitement à de faibles concentrations en plomb inhibe la croissance des racines et des parties aériennes (Garland et Wilkins, 1981; Mishra et Choudhuri, 1998; Wierzbicka, 1999a; Makowski et al., 2002; An, 2006; Islam et al., 2007; Kopittke et al., 2007; Luan et al., 2008 ; Dirilgen, 2011). Cette inhibition est plus importante pour la racine, ce qui peut être corrélé à la plus forte teneur en plomb de cette dernière (Luan et al., 2008). Les racines primaires sont également plus sensibles que les racines latérales (Obroucheva et al., 1998 ; Liu et al., 2008), Kopittke et collaborateurs (2007) ont pu montré une augmentation en nombre de racines secondaires par unité de longueur de racines.

L'accroissement de biomasse végétale est diminué par de fortes doses de plomb (Gopal et Rizvi. 2008; Gichner et al. 2008; Islam et al., 2008; Piotrowska et al., 2009; Sing et al., 2010). Toutefois, l'effet des faibles concentrations n'est pas clairement établi et l'inhibition de la croissance observée n'est pas forcément corrélée à une diminution de biomasse (Mishra et Choudhuri, 1998; Kosobrukhov et al., 2004; Xiong et al., 2006; Zheljzakov et al., 2006 ; Yan et al. 2010). Makowski et collaborateurs (2002) ont même montré un accroissement de la biomasse dans les zones racinaires contenant les plus



grandes quantités de plomb, comme l'apex et la zone d'élongation. Cette augmentation de biomasse peut être attribuée à la synthèse de nouveaux composants pariétaux (Wierzbicka, 1998). Au niveau morphologique, une exposition à une faible concentration de plomb conduit au développement de racines plus courtes mais plus compactes.

Sur de longues durées, les traitements au plomb, même à des doses non-létales, peuvent conduire à l'apparition de nécroses au niveau des apex racinaires et des feuilles, ainsi que des chloroses foliaires (Khan et Frankland, 1983; Liu *et al.*, 2000; Dey *et al.*, 2007; Luan *et al.*, 2008; Gupta *et al.*, 2009, 2010). Il faut cependant noter que, même aux plus fortes concentrations rencontrées dans l'environnement (sols miniers, usines de retraitement de batteries), le plomb induit rarement une mort des végétaux (Cobb *et al.*, 2000; Arshad *et al.*, 2008). L'ensemble des perturbations macroscopiques observées est la résultante :

- De l'interaction du plomb avec les différents composants cellulaires et les macromolécules (protéines, ADN...);
- De la perturbation de nombreux processus physiologiques comme la régulation du statut hydrique (Brunet *et al.*, 2009), la nutrition minérale (Kopittke *et al.*, 2007; Gopal et Rizvi 2008; Wang *et al.*, 2010), la respiration ou la photosynthèse (Islam *et al.*, 2008).

### 5.6.2. Action sur les protéines.

Le plomb présent dans le cytoplasme interagit avec les protéines. L'action du plomb sur la concentration totale en protéine n'est pas claire, bien que de fortes concentrations puissent diminuer le pool protéique (Jana et Choudhuri, 1982; Mohan et Hosetti, 1997; Saxena *et al.*, 2003; Mishra *et al.*, 2006b; Garcia *et al.* 2006; Piotrowska *et al.*, 2009). Cette diminution quantitative de la teneur en protéines totales apparaît comme la résultante de plusieurs conséquences de l'action du plomb :

- Modification de l'expression génique (Kovalchuk *et al.*, 2005) et augmentation de l'activité ribonucléasique (Gopal et Rizvi, 2008);
- Stimulation de l'activité protéasique (Jana et Choudhuri, 1982; Gpta *et al.*, 2009);
- Diminution de la teneur en acides aminés libres (Xiong *et al.*, 2006; Gupta *et al.*, 2009), corrélée à une forte perturbation du métabolisme de l'azote (Chatterjee *et al.*, 2004). Cependant, on constate une augmentation de certains acides aminés comme la proline (Qureshi *et al.*, 2007; Hedaya, 2008; Wang *et al.*, 2010) qui semble jouer un rôle important dans la tolérance de la plante au plomb (Saradhi et Saradhi, 1991).

De plus faibles concentrations semblent, au contraire, augmenter la teneur en protéines totales (Mishra et *al.*, 2006b). Cette accumulation protéique, limitée aux premiers jours d'exposition, pourrait être la conséquence de la synthèse, par la plante, de protéines de défense contre ce stress métallique (Gupta et *al.*, 2010), avec notamment des protéines intervenant dans le maintien du statut redox de la cellule comme l'ascorbate, ou dans la séquestration du métal (GSH, PC) (Brunet et *al.*, 2009; Liu et *al.*, 2009; Yadav 2010; Jiang et Liu 2010).

Outre une modification quantitative, le plomb agit sur la composition qualitative des protéines cellulaires. Il modifie le profil protéique des cellules racinaires de fèves exposées au plomb (Beltagi, 2005), ce qui peut être corrélé avec la modification du profil du transcriptome (Kovalchuk et *al.*, 2005). Les ions Pb<sup>2+</sup> influencent également fortement les activités de nombreuses enzymes intervenant dans différents processus métaboliques. Cette forte interactivité avec les enzymes de la plante est une des causes majeures de la toxicité de ce métal (Kovalchuk et *al.*, 2005).

### 5.6.3. Action sur les activités enzymatiques

Le plomb peut inhiber l'action de certaines enzymes (Tab.3), notamment celles qui possèdent un groupement -SH, ce dernier présentant une forte affinité pour le plomb. Dans la plupart des cas, l'inhibition se fait par interaction du plomb avec ce groupement qui est indispensable pour l'activité et le bon fonctionnement des enzymes. Le plomb affecte donc la conformation de nombreuses enzymes, les empêchant de fonctionner convenablement (Seregin et Ivanov, 2001). Parmi les enzymes fondamentales qui peuvent être inhibées par le plomb, se trouvent des enzymes impliquées dans la biosynthèse de la chlorophylle ou bien la RUBISCO qui permet la fixation du CO<sub>2</sub> (Seregin et Ivanov, 2001 ; Patra et *al.*, 2004). La photosynthèse reste de ce fait un des mécanismes les plus affectés par la présence du plomb.

**Tableau n°3** : Effets du plomb sur les activités d'enzymes intervenant dans différents processus métaboliques (modifié d'après Sharma et Dubey, 2005).

Processus métaboliques	Enzymes	Espèce végétales	Effet	Références
Synthèse chlorophyllienne	- aminolevulinate déshydratase	<i>Phaseolus vulgaris</i>	-	Prasad et Prasad, 1987
Fixation du CO <sub>2</sub>	Ribulose 1,5 bisphosphate carboxylase/oxygénase	<i>Avena sativa</i> <i>Hordeum vulgare</i>	-	Moustakas <i>et al.</i> , 1997; Stiborova <i>et al.</i> , 1986
	Ribulose 1,5 bisphosphate carboxylase/oxygénase	<i>Pisum sativum</i> (feuilles détachées)	=	Parys <i>et al.</i> , 1998
	phosphoénolpyruvate carboxylase	<i>Zea mays</i>	-	Vojtechova et Leblova, 1991
	phosphoénolpyruvate carboxylase	<i>Pisum sativum</i> (feuilles détachées)	=	Parys <i>et al.</i> , 1998
Cycle de Calvin	Glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase	<i>Spinach oleracea</i>	-	Vallee et Ulmer, 1972
	Ribulose 5-phosphate kinase	<i>Spinach oleracea</i>	-	Vallee et Ulmer, 1972
Voie des pentoses phosphates	Glucose-6-phosphate déshydrogénase	<i>Spinach oleracea</i>	-	Vallee et Ulmer, 1972
Métabolisme de l'azote	Nitrate réductase	<i>Cucumis sativus</i>	-	Burzynski et Grabowski, 1984
	Nitrogénase	<i>Glycine max</i>	-	Huang <i>et al.</i> , 1974
	Glutamine synthétase	<i>Glycine max</i>	-	Lee <i>et al.</i> , 1976
Enzymes nucléolytiques	Désoxyribonucléase	<i>Potamogeton pectinatus</i> <i>Hydrilla verticillata</i>	+	Jana et Choudhuri, 1982
	Ribonucléase	<i>Potamogeton pectinatus</i> <i>Hydrilla verticillata</i> <i>Raphanus sativus</i>	+	Jana et Choudhuri, 1982 Gopal et Rizvi, 2008
Protéolyse	Protéase	<i>Potamogeton pectinatus</i> <i>Hydrilla verticillata</i>	+	Jana et Choudhuri, 1982
Phosphohydrolase	Phosphatase	<i>Potamogeton pectinatus</i> <i>Hydrilla verticillata</i> <i>Glycine max</i> <i>Raphanus sativus</i>	+	Jana et Choudhuri, 1982 Lee <i>et al.</i> , 1976 Gopal et Rizvi, 2008
	Phytase	<i>Pisum sativum</i>	-	Paivoke, 2002
Métabolisme des sucres	-amylase	<i>Oryza sativa</i>	-	Mukherji et Maitra, 1976
	-amylase	<i>Glycine max</i>	+	Lee <i>et al.</i> , 1976
Métabolisme énergétique	ATPase	<i>Zea mays</i>	-	Kennedy et Gonsalves, 1989

(-) effet négatif

(+) effet positif

(=) sans effet

#### 5.6.4. Effets sur la photosynthèse

Chez les plantes, l'exposition au plomb conduit à une forte inhibition de la photosynthèse, du rendement photosynthétique, et à une limitation du taux d'assimilation de CO<sub>2</sub>. Le rendement photosynthétique, très sensible, peut chuter de plus de 50 % (Huang et *al.*, 1974; Bazzaz et *al.*, 1975; Poskuta et *al.*, 1987; 1988; Xiong et *al.*, 2006; Hu et *al.*, 2007; Liu et *al.*, 2008; Piotrowska et *al.*, 2009; Sing et *al.*, 2010; Cenkci et *al.*, 2010; Wang et *al.*, 2010). Cette inhibition s'explique par la diminution de la synthèse de chlorophylle, de plastoquinone (Burzynski, 1987) des teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes (Kosobrukhov et *al.*, 2004; Qureshi et *al.*, 2005; Chen et *al.*, 2007; Gopal et Rizvi, 2008; Gaji et *al.*, 2009). Toutefois, ces effets varient en fonction des espèces végétales.

Le plomb interagit en causant :

- la destruction de l'ultra-structure des chloroplastes (Choudhury et Panda, 2004; Sharma et Dubey, 2005; Elzibieta et Mirosława 2005; Islam et *al.*, 2007),
- diminue l'activité de la ferrédoxine NADP<sup>+</sup> réductase et -aminolevulinate déshydratase ou ALAD qui est à la base de la synthèse des chlorophylles et dont l'ion Zn<sup>2+</sup> est remplacé par Pb<sup>2+</sup> (Gupta et al. 2009; Giji et *al.*, 2009; Cenkci et *al.*, 2010),
- inhibition de la synthèse de la plastoquinone et des caroténoïdes (Kosobrukhov et *al.*, 2004; Chen et *al.*, 2007; Liu et *al.*, 2008; Cenkci et *al.*, 2010),
- le plomb perturbe en particulier les flux d'électrons de la chaîne de transport d'électrons (Qufei et *al.*, 2009),
- déséquilibre de la concentration de dioxyde de carbone entre l'intérieure et l'extérieure de la cellule à cause de la fermeture des stomates (Romanowska et *al.*, 2002, 2005, 2006),
- déséquilibre de l'approvisionnement des éléments essentiels à la photosynthèse tels que le Mn, Fe et Cu (Chatterjee et *al.*, 2004; Gopal et Rizvi 2008) et la substitution des bivalentes par le plomb (Gupta et al. 2009; Cenkci et al. 2010),
- l'inhibition de certaines enzymes intervenant dans le cycle de Calvin (Mishra et *al.*, 2006; Liu et *al.*, 2008),
- augmente l'activité de la chlorophyllase (Liu et *al.*, 2008).

#### 5.6.5. Effets sur la respiration

L'effet du plomb sur l'activité respiratoire a été peu étudié (Seregin et Ivanov, 2001). L'ensemble des études concernant les feuilles, l'effet des ions Pb<sup>2+</sup> sur l'activité respiratoire des racines reste inconnu. Des feuilles de pois traitées avec du nitrate de plomb voient leur concentration en CO<sub>2</sub> augmenter de façon significative (Parys et *al.*, 1998). Cette augmentation résulte de la diminution de l'activité photo-synthétique et de l'augmentation de la respiration. La respiration foliaire est la résultante de la

respiration sombre (mitochondriale) et de la photorespiration effectuée par la Rubisco au niveau des chloroplastes. Romanowska et collaborateurs (2002) ont mis en évidence que l'augmentation de la respiration, induite par les ions  $Pb^{2+}$ , était uniquement due à la respiration sombre. La photorespiration ne serait pas affectée (Romanowska et al., 2002) voire inhibée (Poskuta et al., 1987; Poskuta et al., 1988). L'augmentation globale de la respiration conduit à une élévation de la concentration en ATP pouvant correspondre à un besoin élevé d'énergie de la plante pour lutter contre les effets du métal (Pourrut, 2008).

La stimulation de la respiration sombre par le plomb a été observée sur des plantules de pois (Łukaszek et Poskuta, 1998), des feuilles détachées ou des protoplastes de pois et d'orge (Parys et al., 1998; Romanowska et al., 2002; 2005; 2006). Il a été proposé, pour expliquer ce phénomène, que dans les conditions d'une fixation moindre du  $CO_2$ , les équivalents redox produits par la photosynthèse pourraient être transférés aux mitochondries et ainsi augmenter la respiration (Poskuta et al., 1996).

A de fortes concentrations, le plomb a un fort effet inhibiteur sur la chaîne respiratoire. Cette inhibition peut être la conséquence de la fixation du plomb sur la membrane mitochondriale, perturbant le transport d'électron (Bittell et al., 1974) et pouvant conduire à un découplage de l'étape de phosphorylation, comme c'est le cas pour le cadmium ou le zinc (Romanowska, 2002).

#### 5.6.6. Effets sur le statut hydrique

La distribution du statut de l'eau dans la plante a été signalée dans plusieurs études (Brunet et al. 2009), une diminution de la transpiration des plantes exposées même à de petites doses (Barcelo et Poschenrieder 1990; Patra et al., 2004) causée probablement par la réduction de la surface foliaire (Elibieta et Miroslawa, 2005), ainsi qu'une diminution de la teneur en eau (Barcelo et Poschenrieder, 1990; Wozny et al., 1995 ; Sayed, 1999). Cette modification du potentiel hydrique cellulaire, en particulier au niveau des cellules de garde, pose des problèmes de régulation d'ouverture et de fermeture des stomates. Pour maintenir la turgescence de ces cellules, la plante synthétise massivement des osmolytes, et en particulier de la proline (Qureshi et al., 2007).

Le mécanisme d'ouverture/fermeture est sous le contrôle d'une phytohormone, l'acide abscissique ou ABA (Roelfsema et Hedrich, 2005). La présence d'ions  $Pb^{2+}$  entraîne une forte accumulation d'ABA dans les racines et les parties aériennes (Parys et

*al.*, 1998; Atici *et al.*, 2005), induisant la fermeture des stomates (Stefanov *et al.*, 1993; Kosobrukhov *et al.*, 2004; Elibieta et Mirosława, 2005). Cette fermeture limite fortement les échanges gazeux avec l'atmosphère, et par conséquent les pertes hydriques par transpiration (Parys *et al.*, 1998; Vassil *et al.*, 1998). La transpiration de la plante, via des pores foliaires est également limitée par le dépôt d'une couche de cuticule sur la surface des feuilles, consécutivement à une exposition au plomb (Elibieta et Mirosława, 2005). Pour résumer les données précédentes, le plomb limite les pertes en eau de la plante par transpiration. Cette limitation de la transpiration, moteur principal de la circulation de la sève brute et par conséquent d'eau, conduit à une diminution de la teneur en eau des plantes.

#### **5.6.7. Effets sur la nutrition minérale**

Le plomb affecte également la nutrition minérale (Tab.4), en perturbant le prélèvement et le transport des nutriments par la plante, tels que Ca, Fe, Mg, Mn, P et Zn en bloquant leur entrée ou en se liant à eux, les rendant indisponibles pour les plantes (Xiong, 1997 ; Chatterjee *et al.*, 2004; Sharma et Dubey 2005; Gopal et Rizvi 2008). Burzynski (1987) a montré que la présence de plomb entraînait une diminution du contenu en potassium dans tous les tissus du concombre, ainsi qu'une diminution du calcium dans les cotylédons et l'hypocotyle, mais aussi du fer dans les racines. Le plomb affecte aussi le métabolisme azoté en diminuant le prélèvement de nitrate et en perturbant le fonctionnement du nitrate réductase (Seregin et Ivanov, 2001).

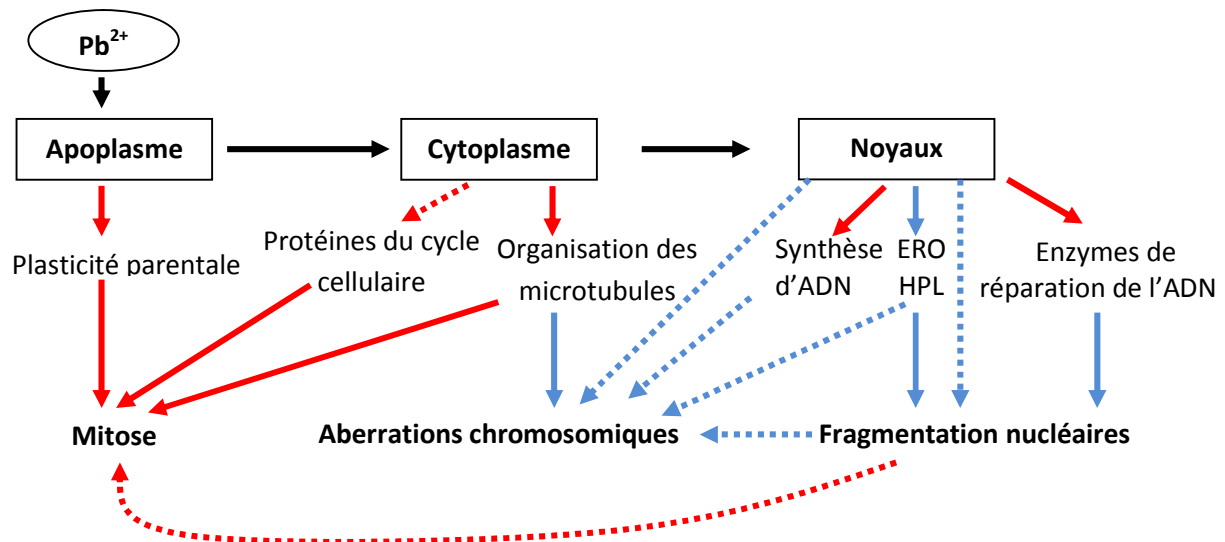
**Tableau n°4** : Effets du plomb sur la concentration en éléments minéraux des parties aériennes et racinaires (Pourrut, 2008).

Element	Partie de la plante	Effet
Ca	Aérienne	
	Racinaire	
Cu	Aérienne	
	Racinaire	
Mg	Aérienne	
	Racinaire	
Fe	Aérienne	
	Racinaire	
Zn	Aérienne	
	Racinaire	
Mn	Aérienne	
	Racinaire	
K	Aérienne	
	Racinaire	
N	Aérienne	
	Racinaire	
P	Aérienne	
	Racinaire	
S	Aérienne	
	Racinaire	

signifie que la concentration mesurée a diminué consécutivement à un traitement au plomb, qu'elle a augmenté, ↔ qu'elle n'a pas été modifiée ; signifie que les données disponibles sont contradictoires et ne permettent pas de dégager une tendance générale. En grisé apparaissent les éléments dont la concentration est modifiée significativement par l'apport de plomb.

#### 5.6.8. Effets antimitotique et génotoxicité du plomb

L'effet antimitotique du plomb est l'un des aspects les plus connus de sa toxicité. En effet, il y a 80 ans, Hammett (1928) démontrait que le plomb induisait une diminution de l'activité mitotique dans des cellules de racines d'oignon. Beaucoup plus tard, Wierzbicka (1999) et Patra et *al.*, (2004) ont étudié en détail ce phénomène pour en comprendre les mécanismes (Fig.6). Le premier point important est la liaison des ions  $Pb^{2+}$  aux membranes cellulaires et à la paroi, induisant une rigidification de ces structures et perturbant la division cellulaire. Le second point important est la désorganisation des microtubules dont l'organisation est essentielle pour la mitose. Il est à signaler que de faibles doses de plomb semblent ne pas affecter la mitose de façon significative (Hammett, 1928; Loudes, 2002; Cecchi, 2008).



**Figure n°6:** Représentation des liens avérés (flèches pleines) et potentiels (flèches pointillées) entre le plomb, la mitose et la génotoxicité (Pourrut, 2008).

En rouge : interaction négative ; en bleu : interaction positive. En noir : mouvement du plomb. ERO : Espèces Réactives à l'oxygène. HPL : hydroperoxydes lipidiques.

Si l'action antimitotique du plomb et ses mécanismes sont bien connus chez les plantes, il n'en est pas de même concernant son action génotoxique. Même à de faibles concentrations en métal, les traitements au plomb induisent la formation d'aberrations caractéristiques des ETM (Patra et al., 2004; Cecchi et al., 2008; Marcato-Romain et al., 2009; Grover et al., 2010; Barbosa et al., 2010; Shahid et al., 2011).

Les aberrations chromosomiques peuvent s'expliquer en partie par les perturbations du réseau de microtubules. Le plomb crée des cassures simples et doubles brins sur l'ADN, des liaisons transversales entre ADN-ADN ou ADN-protéines (Ruci ska et al., 2004; Gichner et al., 2008; Shahid et al., 2011).

Chez les mammifères, sa génotoxicité a davantage été étudiée (Silbergeld et al., 2000; Silbergeld, 2003). Le plomb peut pénétrer dans le noyau (Hammett, 1928 ; Małeczka et al., 2008) et se lier directement à l'ADN ou indirectement sur les protéines se fixant sur l'ADN. Il semblerait que ce métal n'exerce pas une action génotoxique directement sur l'ADN, lorsqu'on le met en contact avec de l'ADN « nu » (Valverde et al., 2001). Par contre, la fixation du plomb perturbe les mécanismes de réparation de l'ADN, mais également sa synthèse et sa réplication. Le plomb peut également affecter ces mécanismes en remplaçant le zinc dans le motif en doigt de zinc de nombreuses enzymes intervenant sur l'ADN (Gastaldo et al., 2007).

L'ensemble de ces effets peut conduire à des perturbations de la mitose et potentiellement induire des aberrations chromosomiques (Cenkci et al., 2010).



## 6. Le modèle biologique *Vicia faba* L.

### 6.1. La plante

#### 6.1.1. Classification

Décrite par Linné en 1753, la fève *Vicia faba* L. (broad bean en anglais) est une plante dicotylédone herbacée originaire d'Asie ou du Moyen-Orient. Sa culture est très ancienne et pratiquée dans le monde entier.

Sa classification systématique est la suivante :

- Règne *Plantae*
- Sous-règne *Tracheobionta*
- Division *Magnoliophyta*
- Classe *Magnoliopsida*
- Sous-classe *Rosidae*
- Ordre des *Fabales*
- Famille des *Fabaceae*
- Genre *Vicia*
- Espèce *faba*

Il en existe 2 sous-espèces, paucijuga et eu-faba. Dans la sous-espèce eu-faba, on dénombre 3 variétés différentes (Gallais et Bannerot 1992) :

- *Vicia faba major*, la fève maraîchère à grosses graines destinées à la consommation humaine;
- *Vicia faba minor*, la petite fève ou féverole utilisée pour l'alimentation du bétail ;
- *Vicia faba equina*, la fève à cheval à grains moyens aussi appelée féverole ou févette dans certaines régions. Comme son nom l'indique elle est également destinée à l'alimentation du bétail.

#### 6.1.2. Aspect et particularités

La Figure n°7 représente l'aspect des feuilles, fleurs et fruits de *Vicia faba* L. Il s'agit d'une plante robuste, grimpante, qui peut atteindre plus d'un mètre. Ses feuilles, composées de 2 à 7 folioles, sont alternes sur la tige de section carrée. Ses fleurs, disposées en racème (grappe), sont blanches avec un point noir sur les ailes, zygomorphes (à symétrie axiale) et hermaphrodites, à pollinisation entomophile. Sa floraison dépend de la photopériode et de la température (Evans 1959). Ses fruits sont des gousses, caractéristiques de la famille des Fabacées.

Comme chez tous les représentants de cette famille, connus sous le nom de légumineuses, les racines de la plante possèdent des nodules à l'intérieur desquelles des cellules géantes servent d'abri à une bactérie symbiotique, appartenant à l'espèce *Rhizobium leguminosarum*. Cette bactérie est capable de capter le diazote atmosphérique et de le fixer dans le sol sous forme d'ions utilisables par les plantes (Foltete, 2010).



**Figure n° 7:** Les différentes parties de la fève *Vicia faba* L. (Thomé 1885).

### 6.1.3. Culture

La fève est localisée dans l'étage bioclimatique de 250 mm de pluie, tolère bien le froid (Herzog, 1984) et les hautes températures; la somme de températures nécessaires pour accomplir son cycle végétatif varie de 1900 à 2000 °C (Carlu, 1952). Cette plante méditerranéenne est peu exigeante sur le plan type de sol, à condition que ce dernier soit bien ensoleillé et pas trop acide. Son pH optimal se situe aux environs de 6,75, mais elle tolère bien les pH compris entre 5,5 et 8. Sa température optimale de pousse se situe aux environs de 20°C (Foltete, 2010).

Il s'agit d'une plante annuelle. Elle peut se semer sous des climats très cléments à l'entrée de l'hiver, en octobre ou novembre pour donner des fruits dès la mi-avril, dès

février dans le sud, mais sous des climats moins favorables il faudra attendre le mois de mars pour les semis et le mois de juin pour la récolte (Foltete, 2010).

#### 6.1.4. Cariotype et cycle cellulaire

Le caryotype de *Vicia faba* L. est très simple. Toutes les Génotypes de la plante sont diploïdes, et possèdent six paires de grands chromosomes, dont cinq paires de chromosomes acrocentriques et une paire de chromosomes métacentriques mesurant 15 µm de long, soit environ le double de la longueur des premiers (Duc, 1997).

Le noyau de ses cellules renferme 26,7 pg d'ADN dont beaucoup d'hétérochromatine (Bennett 1976), ce qui est très élevé par rapport à beaucoup d'autres plantes. En comparaison, le pois *Pisum sativum* n'en possède que 9,8 pg (Grant et Owens, 2001). Le cycle cellulaire normal de la plante. Il dure environ 19,3h au total (Evans et Scott, 1963).

#### 6.2. Intérêt en écotoxicologie

Robuste, facile à se procurer et à faire germer, la fève permet, par la rapidité de sa germination et de sa croissance, de disposer très facilement de jeunes pousses dont les racines secondaires seront déjà utilisables pour les tests au bout d'une dizaine de jours seulement. De plus, cette plante, utilisée aussi en agriculture, peut pousser sur des sols de différentes natures, d'où son intérêt dans les expériences de terrain (Foltete, 2010).

La fève est très sensible à la pollution du sol, ce qui en fait un modèle végétal très utilisé en écotoxicologie dans un grand nombre d'études. La simplicité de son caryotype l'a faite élire pour un grand nombre d'études de mutagénèse par le test des aberrations chromosomiques (De Marco et al., 1995; Kanaya et al., 1994; Sang et Li 2004). De plus, la grande quantité d'ADN contenue dans son noyau (Bennett, 1976), la rend très sensible aux molécules génotoxiques (Ferrara et al., 2004). Ainsi, elle est l'un des modèles les plus utilisés dans le test des micronoyaux, pratiqué sur les cellules-filles de ses méristèmes racinaires (Cotelle, 1999 ; Degrassi et Rizzoni, 1982 ; Duan et al., 1999; Marcato-Romain et al. 2009). Un autre test de génotoxicité, le test des comètes, est également pratiqué sur différents tissus de la plante (Cotelle, 1999; Koppen et Verschaeve 1996; Lin et al., 2007). *Vicia faba* L. est en outre aussi employée pour étudier les réponses des marqueurs du stress oxydant (Radetski et al., 2004) et d'autres défenses antitoxiques de la plante comme les phytochélatines (Béraud 2007).

# **Chapitre II :**

# **Matériels & Méthodes**

## 1. Objectifs du travail

Les différents essais menés pour la réalisation du travail présenté consistent en l'estimation des effets procurés par le plomb sur le comportement de la fève, à différents stades de développement. Pour une meilleure valorisation de ces effets, l'introduction d'une variabilité génotypique s'impose, en effet deux génotypes de la fève d'origine et de comportement controversé sont conduits.

L'étude comporte deux principaux essais, un premier essai mené au laboratoire a permis d'estimer l'effet du plomb sur le processus de germination, essentiellement sa procédure biochimique. L'évaluation de l'activité des  $\alpha$ -amylases impliqués dans la remobilisation des réserves glucidiques, sous le stress a été étudiée.

Un second essai mené en conditions contrôlées sous serre, englobe l'évaluation des différentes réactions de la variabilité testée à l'égard de la contamination par le plomb. Ces réactions s'identifient par des modifications comportementales dans l'élaboration des différents caractères, morphologiques, physiologiques et anatomiques extériorisés le long de cycle de développement de la plante.

## 2. Matériels végétal utilisé

Le matériel végétal utilisé se compose de deux génotypes de la fève (*vicia faba* L.) d'origine et de comportement, différents. Une variété locale, Sidi Aïch, fournie par l'ITGC de Sidi Bel Abbès, et un autre génotype d'origine Espagnole, super Aguadulce.

### 3. Premier Essai : Effet du plomb sur le processus de la germination des graines

Au cours de cet essai, les effets du stress avec le plomb sur l'activité des  $\alpha$ -amylases impliquées dans la dégradation de l'amidon, la faculté germinative ainsi que le taux de croissance de la radicule sont estimés.

#### 3.1. Conduite de l'essai

##### 3.1.1. Taux d'imbibition

Cet essai est basé sur l'évolution de la teneur d'imbibition des graines mises en germination en fonction des différents milieux.

Les graines sont désinfectées à l'eau javellisée (4%) pendant 5 min, puis rincées abondamment à l'eau distillée. Les graines sont disposées dans des boîtes de pétri de 9cm de diamètre, contenant deux couches de papier filtre et réparties selon trois traitements, différents par la composition du milieu de germination. Dans un premier traitement, le milieu est constitué d'eau distillée. Pour les deux autres, ce milieu est substitué par une solution de plomb  $[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$  à deux concentrations, 500 et 1000 ppm. La température de germination est fixée à 25°C.

Afin de suivre l'évolution de l'imbibition, les graines issus des différents traitements sont essuyées délicatement et pesées chaque 6 heures et ce le long des 48 heures de mise en germination.

##### 3.1.2. Extraction et dosage des activités des $\alpha$ -amylases

Au cours de la germination de la graine, l'activité des amylases est indispensable pour la remobilisation des ressources glucidiques, mises en réserve sous forme d'amidon. Les amylases catalysent l'hydrolyse de l'amidon suivant une activité progressive et libèrent des molécules de courtes chaînes osidiques pour aboutir au maltose et peu de glucose.

###### a. Extraction du complexe enzymatique

L'extraction du complexe enzymatique est produite après 48 heures de mise en germination des graines.

Le substrat de l'extraction est constitué de 0,5 g de graines issus des différents milieux de germination. L'ensemble est broyé dans 10 ml de solution tampon acétate à pH 4.8 et filtré. Le filtrat est recueilli dans un tube d'Eppendorf de 1.5 ml, puis centrifugé pendant 10mn à une vitesse de 8000 tours à une température de 15°C.

### **b. Dosage de l'activité des alphas amylases**

Dans chaque tube de l'extrait enzymatique (1ml), on ajoute 0.25ml de solution d'amidon à 1% (dilution dans la solution tampon acétate pH 4.8), passer au vortex et laisser incuber au bain-marie à 30°C pendant 25mn. Ajouter 0.5ml du réactif contenant 14 ml de NaOH (2N), 0,2g d'acide dinitrosalicylique (DNS) + 6g de tartrate (K/Na), 20ml d'eau distillée, l'acide dinitrosalicylique permettant l'arrêt de l'hydrolyse et le dosage simultané du maltose formé. Mettre l'ensemble dans un bain-marie bouillant pendant 10mn, refroidir et doser au spectrophotomètre à  $\lambda = 530\text{nm}$ .

### **3.1.3. La longueur de la radicule**

Au bout des 96 heures de mise en germination des grains et à l'apparition de la radicule, une cinétique de sa croissance est établie. Ainsi la longueur de la radicule est mesuré chaque 24 heures et se pendant 05 jour.

## **4. Deuxième Essai : Effet de plomb sur les paramètres morphologiques, physiologiques et anatomiques**

### **4.1. Conduite de l'essai**

L'expérimentation est conduite dans une serre semi-automatique au niveau de la faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'université IBN KHALDOUN de Tiaret, les températures, nocturne et diurne sont maintenues respectivement aux alentours de 12 et 25°C et l'humidité relative à 70%.

Les graines de *Vicia faba*, des deux variétés sont stérilisées dans une solution d'hypochlorite de sodium à 6%, rincées à l'eau distillée et mises en germination. Après germination, les graines sont repiquées dans des cylindres en PVC (90cm de longueur, 11cm de diamètre) remplis d'un substrat reconstitué de sable, sol et terreau à des proportions 8 :3 :1 d'une faible capacité de rétention, 24.54%.

Le sable est tamisé puis lavé à l'eau de robinet ensuite séché à l'air libre. Le sol a été prélevé à une profondeur de 30cm afin d'éviter toute contamination possible en plomb d'origine atmosphérique, séché à l'air libre, tamisé (pour éliminer la fraction supérieure à 2 mm) et homogénéisé. Un échantillon est analysé pour déterminer les propriétés du sol (Tab.5). Les cylindres sont répartis selon trois lots. Un premier lot sert de témoin (D0) et deux autres subissent un stress métallique, à deux intensités, 500 ppm (D1) et 1000 ppm (D2). Chaque traitement se compose de 20 cylindres, représentant dix

répétitions pour chacun des deux génotypes (Fig.8). L'ensemble des cylindres sont maintenus à capacité au champ par apport quotidien d'une quantité d'eau estimée par pesée des cylindres, afin de les ramener à la capacité de rétention maximale. L'eau d'irrigation est substitué chaque trois jours par une solution nutritive commerciale de type ACTIVEG (annexe1).

**Tableau n°05** : Propriété physico-chimique du substrat utilisé.

<b>Granulométrie (Pipette De Robinson)</b>	
- $\varnothing < 2\mu\text{m}$	5.26
- $2\mu\text{m} < \varnothing < 20\mu\text{m}$	7.89
- $20\mu\text{m} < \varnothing < 50\mu\text{m}$	44.18
- $50\mu\text{m} < \varnothing < 200\mu\text{m}$	17.52
- $200\mu\text{m} < \varnothing < 2\text{mm}$	25.15
<b>pH (AFNOR X31-103 Sol/Eau : 2/5)</b>	7.67
<b>Conductivité Electrique (Ms/Cm) (Iso : 11265 Sol/Eau : 1/10)</b>	0.416
<b>Matière Organique (%) (Méthode De Walkley)</b>	0.13
<b>Azote Total (%) (Kjeldahl Iso : 11261)</b>	0.18
<b>Phosphore Assimilable (ppm) Joret Hébert AFNOR : X31-161</b>	N.D
<b>Calcaire Total (%) Calcimètre De Bernard Iso : 10693</b>	4.41
<b>Calcaire Actif (%)</b>	0.75
<b>CEC En Meq/100g De Sol</b>	10
<b>U.S.D.A Texture :</b>	Silt Loam (limon fin)





**Figure n°8:** Dispositif expérimental (en haut le géotype Sidi Aïch, en bas le géotype Super Aguadulce).

## 4.2. Application du stress métallique

Les solutions du nitrate de plomb  $Pb(NO_3)_2$  sont préparées et appliquées en deux périodes durant l'expérimentation, 25 et 80 jours après le semis (Fig.11). Pendant chaque application deux doses du Pb sont retenus, 500 et 1000 mg/kg du sol. Ces doses équivalent respectivement à 500 et 1000 ppm, appliquées dans chaque cylindre suivant le traitement concerné. L'ensemble des mesures sont effectuées durant ces deux périodes, équivalentes à 80 et 90 jours après le semis.

## 4.3. Paramètres physiologiques

### 4.3.1. La teneur relative en eau (RWC)

La teneur relative en eau a été estimée 30 jours après l'application du premier stress et 10 jours après l'application du deuxième stress. Le limbe des feuilles est excisé à sa base et immédiatement pesé (*FW*). La partie sectionnée est trempée dans l'eau distillée et placée à l'obscurité, à une température de 4°C pendant 12 heures. Les feuilles sont à nouveau repesées ce qui donne le poids en pleine turgescence (*TW*), enfin le poids sec (*DW*) est obtenu après l'étuvage à 70°C pendant 48 heures. La teneur relative en eau est déterminée par l'équation de Barrs et Weatherley (1968):

$$RWC (\%) = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$$

### 4.3.2. Dosage des pigments chlorophylliens

Les pigments sont extraits des feuilles après incubation dans l'acétone 80% durant 24H à 4°C dans une chambre noire afin d'éviter l'excitation des chlorophylles. Les concentrations des chlorophylles et les caroténoïdes sont déterminées par spectrométrie selon la procédure citée par Lichtenthaler (1987).

Les équations suivantes sont utilisées pour calculer les concentrations des chlorophylles et les caroténoïdes dans les feuilles (en mg/g) (Wang et al., 2010):

- $Chl.a = 12,25 \times A663 - 2,79 \times A645$
- $Chl.b = 21,50 \times A645 - 5,10 \times A663$
- $Chl.a+b = 7,50 \times A663 + 18,71 \times A645$
- $CRTN = (1000 \times A470 - 1,82 \times Chl.a - 85,02 \times Chl.b) / 198.$

### 4.3.3. Dosage du proline

La méthode suivie est celle de Troll et Lindsley (1955), simplifiée et mise au point par Dreir et Goring (1974). Elle consiste à prendre 100 mg de matériel végétal (1/3 médian du limbe) puis ajouter 2ml de méthanol à 95 % le tout est chauffé à 95°C dans un bain marie pendant 10 mn. Après refroidissement on prélève 1 ml d'extrait auquel il faut ajouter :

1 ml d'eau distillée et 1 ml de mélange contenant (40 ml d'eau distillée, 60 ml d'acide acétique  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 500 mg de ninhydrine  $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$ )

Le mélange est chauffé à 95 °C dans un bain marie durant 25 à 30 mn, la solution vire au rouge, après refroidissement pendant 5 mn, 3 ml de toluène sont rajoutés à la solution qui est agitée par le vortex, puis laisser le tout à l'obscurité pendant 30 mn

Deux phases se séparent (une phase supérieure, et une phase inférieure). Après avoir éliminé la phase inférieure, on détermine la densité optique à (528 nm). Les valeurs obtenues sont converties en teneur de proline (mg/g MF) à partir de courbe d'étalonnage selon la fonction  $Y = 0.0027 X$  (Y : l'absorbance, X : concentration en proline).

### 4.3.4. Dosage des sucres solubles

Les sucres simples (glucose, fructose, et saccharose) sont extraits par un solvant capable de les solubiliser et de bloquer les activités enzymatiques susceptibles de les dégrader. Ils sont dosés par la méthode de Shields et Burnett (1960).

Le principe de la réaction est basé sur la condensation des produits de dégradation des oses neutres par l'acide sulfurique, ce dernier, très concentré transforme à chaud les oses en dérivés du furfural qui donnent une coloration bleu vert avec l'anthrone, dosé par colorimétrie à 585 nm.

Le matériel végétal prélevé, 100 mg, sur le tiers médian de la feuille est laissé 24 h dans 5,25 ml d'éthanol à 80%. Un volume de 2 ml est prélevé de cet extrait préalablement dilué 10 fois avec de l'éthanol 80% et additionné de 4 ml de réactif composé de 2 g d'anthrone pur additionné à 1 litre d'acide sulfurique pur sont ajoutés ; le réactif est préparé 4 heures à l'avance. Les tubes sont maintenus dans la glace fondante. Après agitation les tubes sont placés dans un bain - marie à 92°C pendant 8 mn, ensuite le tout est refroidi pendant 30 mn à l'obscurité. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 585 nm et la concentration est exprimée en mg/g MF.

#### 4.3.5. Taux de protéines brutes des graines (PRT):

La détermination de protéines brutes est réalisée après détermination de l'azote total par la méthode Kjeldhal (1883) selon la formule suivante :

$$\text{Protéines brutes (\%)} = \text{N \%} \times 6,25.$$

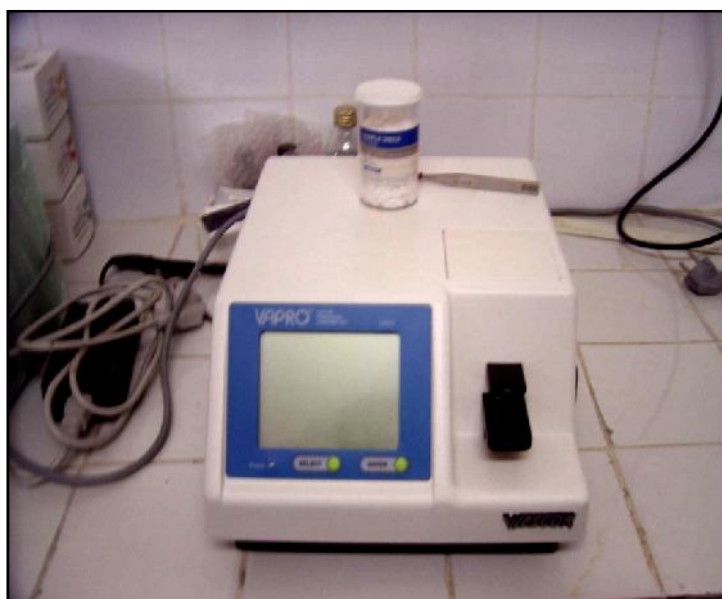
Dans le procédé Kjeldhal la matière organique de l'échantillon est minéralisée (attaquée) par l'acide sulfurique concentré, à chaud (oxydation de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Le carbone et l'hydrogène se dégagent à l'état de vapeur ( $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$ ). L'azote transformé en ammoniac est fixé par l'acide sulfurique à l'état de sulfate d'ammonium (phase de digestion). L'ion  $\text{NH}_4^+$  est ensuite déplacé par l'hydroxyde de sodium (NaOH) et entraîné à la vapeur d'eau puis fixé par l'acide borique à l'état de borate, lui-même dosé par  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Mathieu et al. 2003).

Cette méthode comporte les étapes suivantes :

- Minéralisation.
- Distillation.
- Filtration.

#### 4.3.6. Le potentiel osmotique (PO)

Ce paramètre est mesuré grâce à un micro-osmomètre (VAPRO) (Fig.9) dont le principe est la détermination du point d'évaporation des solutions aqueuses. Un volume de  $10\mu\text{l}$  de jus extrait des feuilles a servi à ces mesures.



*Figure n°9:* Micro-osmomètre (VAPRO).

#### 4.3.7. Le poids sec

Le poids sec des parties aériennes et racinaires est déterminé après le passage à l'étuve pendant 48 heures à 80°C à la fin de l'expérimentation.

#### 4.4. Paramètres morphologiques

L'ensemble des paramètres morphologiques sont estimés durant les deux périodes de l'application du stress, 80 et 90 jours après la mise en culture.

##### 4.4.1. Paramètres morphologiques aériens

Les mesures ont porté sur le nombre d'étages foliaires et la longueur de la tige, élaborés avant et après l'application des deux intensités du stress. La surface foliaire déterminée sur leur scan et traitement par image J est évaluée après 80 jours de l'application de stress, en fin le nombre de gousses par plante issues des différents traitements est déterminé.

##### 4.4.2. Paramètres morphologiques sous terrain

Les cylindres sont vidés de leur contenu, le système racinaire est récupéré et soigneusement lavé. La longueur (cm) de l'axe racinaire, le volume racinaire (cm<sup>3</sup>) obtenus par immersion dans une éprouvette gradué, ainsi que la matière sèche (80°C, 48 heures), sont déterminés.

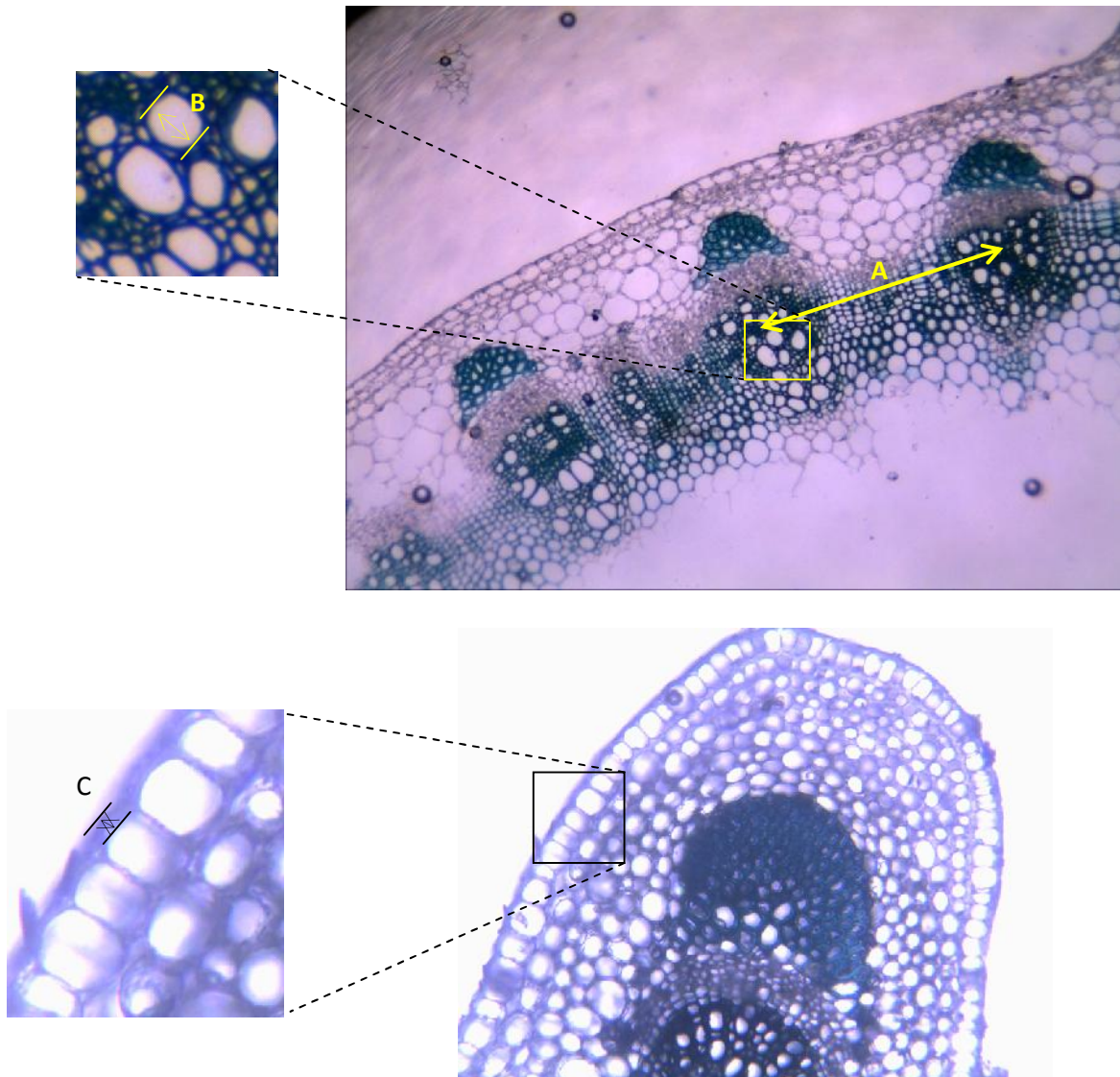
La biomasse sèche des parties aériennes et racinaires est déterminée après le passage à l'étuve pendant 48 heures à 80°C à la fin de l'expérimentation.

#### 4.5. Paramètres anatomiques

L'étude anatomique est réalisée sur les échantillons de la tige. Une partie des entrenœuds (1cm) est prélevée et fixée dans un fixateur composé d'éthanol et d'acide acétique à des proportions respectivement 17/3, durant 24 heures. Les échantillons sont ensuite lavés avec de l'eau pendant un temps égal à la durée de fixation, et enfin déshydraté par passage dans des concentrations croissantes d'éthanol (50%, 70%). Les échantillons sont conservés dans l'éthanol à 70%.

Des coupes à main levé sont pratiquées sous un stéréomicroscope. Les coupes sont récupérées et colorés par un double colorant (carmin aluné et vert d'iode) et observé par un microscope vidéo doté d'un micromètre (Fig.10).

Les mesures ont porté sur le nombre de faisceaux cribro-vasculaires, la distance entre les faisceaux ( $\mu\text{m}$ ), le diamètre des vaisseaux ligneux et l'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques ( $\mu\text{m}$ ) (Fig.10).



**Figure n°10:** Coupe anatomique sur la tige de la fève avec les paramètres anatomiques étudiés. (A : distance entre les faisceaux cribro-vasculaires, B : diamètre du méta-xylème, C : épaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques), en haut une coupe réalisée avec le grossissement Gx4, en bas une coupe réalisée avec grossissement Gx10.

## 5. Analyse statistique

L'ensemble des données obtenus sont étudié par stat box version 6.40, une analyse de variance, comparaison de moyenne ainsi une matrice de corrélation, sont établis.

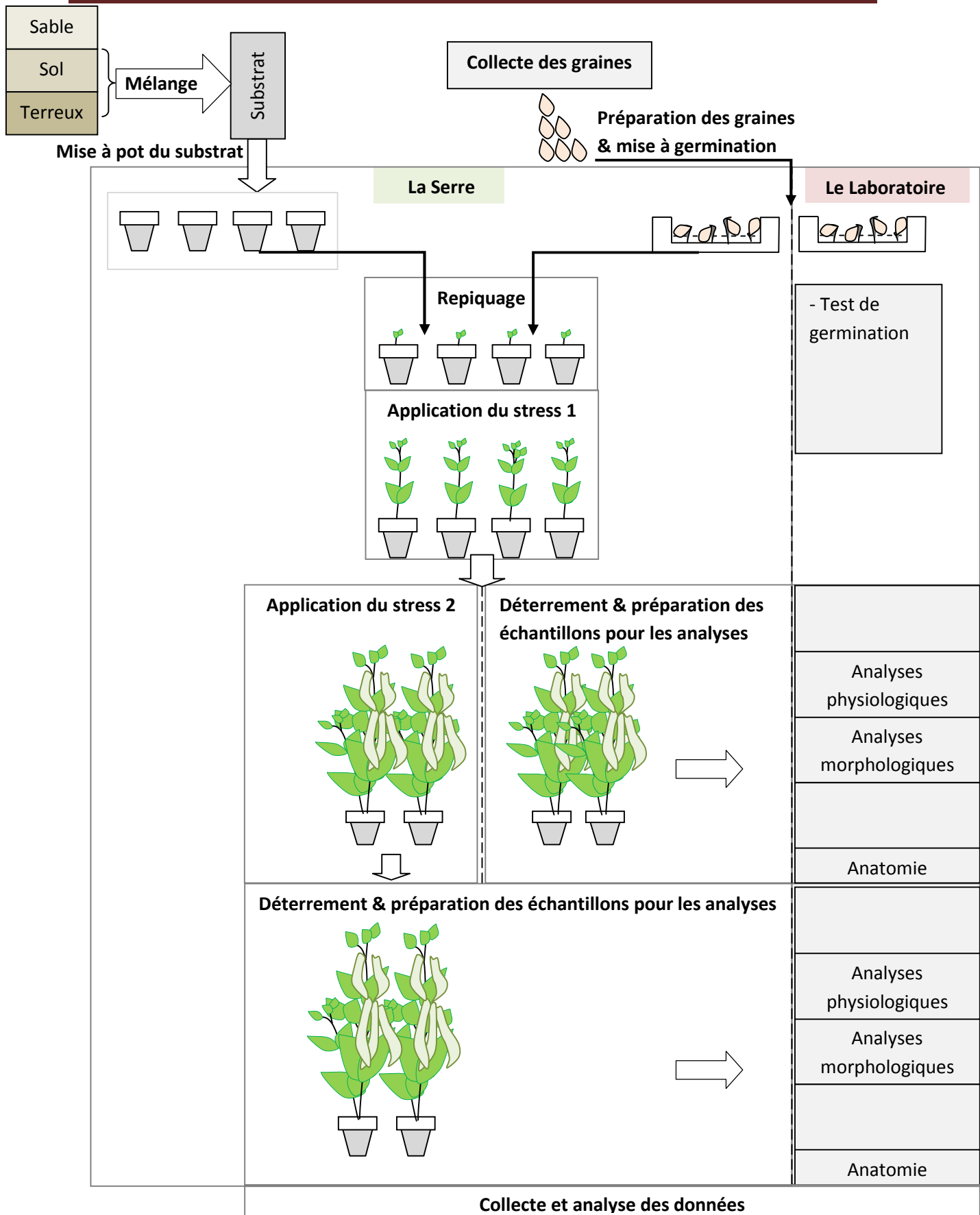


Figure n°11 : Conduite de l'expérimentation et application du stress métallique.

# **Chapitre III**

## **Résultats & Discussions**



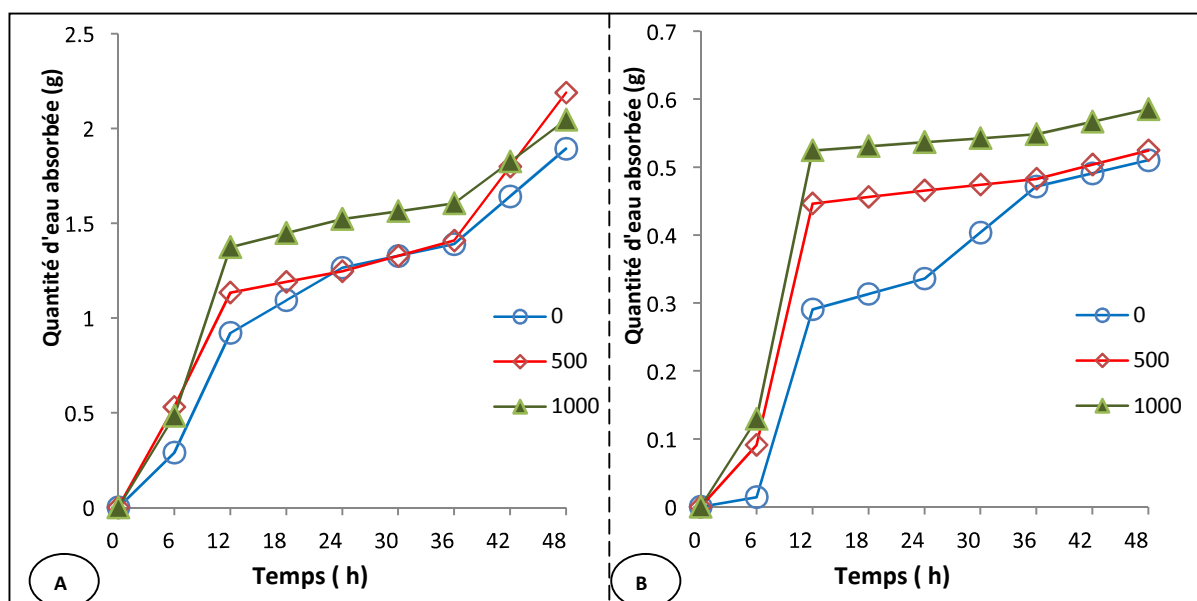
## I. Premier Essai : Effet du plomb sur le processus de la germination

### 1. Test d'imbibition

L'étude des résultats obtenus démontrent que l'application du plomb à différentes doses, exerce de nettes variations dans le processus d'imbibition des graines mises en germination (Fig.12). Cet effet se perçoit de manières très divergentes par les deux génotypes testés. Pour l'ensemble des graines une stabilisation de prise d'eau, est constatée après 12 heures de la mise en germination, et ce dans tous les milieux.

Chez le génotype, Sidi Aïch, le taux d'imbibition est plus faible dans le lot témoin, en comparaison à ceux additionnés de nitrate de plomb. L'augmentation de la prise de poids s'avère proportionnelle de la concentration en cet élément dans le milieu de germination. Au bout de 48 heures de mise en germination, l'augmentation du taux d'imbibition s'évalue à 15.62% et 8.10% respectivement dans les milieux contenant 500 et 1000ppm de Pb. Cependant, au cours de la première période (24 heures), l'augmentation du taux d'imbibition ne concerne que les graines du traitement D2 et est évaluée à 20.36%, contrairement aux graines du lot D1 qui enregistrent une diminution de l'ordre de 1.48%.

Chez le génotype super Aguadulce, l'augmentation du taux d'imbibition est nettement relative à la concentration du Pb dans le milieu de germination. Ainsi l'amendement du milieu de germination en  $Pb(NO_3)_2$  semble être favorable à l'accroissement du taux d'imbibition. Les augmentations respectives du taux d'imbibition des graines s'évaluent au bout de 48 heures de germination à 2.83% et 14.76% dans les traitements D1 et D2. Cette augmentation est plus importante lors de la première période (24 heures) avec une progression de 38.61% pour D1 et 59.81% pour D2.



**Figure n°12:** l'évolution de l'imbibition des graines de la fève (*Vicia faba*) en (g) d'eau en fonction du temps (h) pour les trois traitements (0, 500 et 1000 ppm de Pb). A : V1 (sidi Aïch), B : V2 (Super Aguadulce), (N = 3).

## 2. L'activité de l' amylase

L'accumulation des sucres suite à la dégradation de l'amidon est un signe de la mise à disponibilité des réserves de l'endosperme pour déclencher la germination.

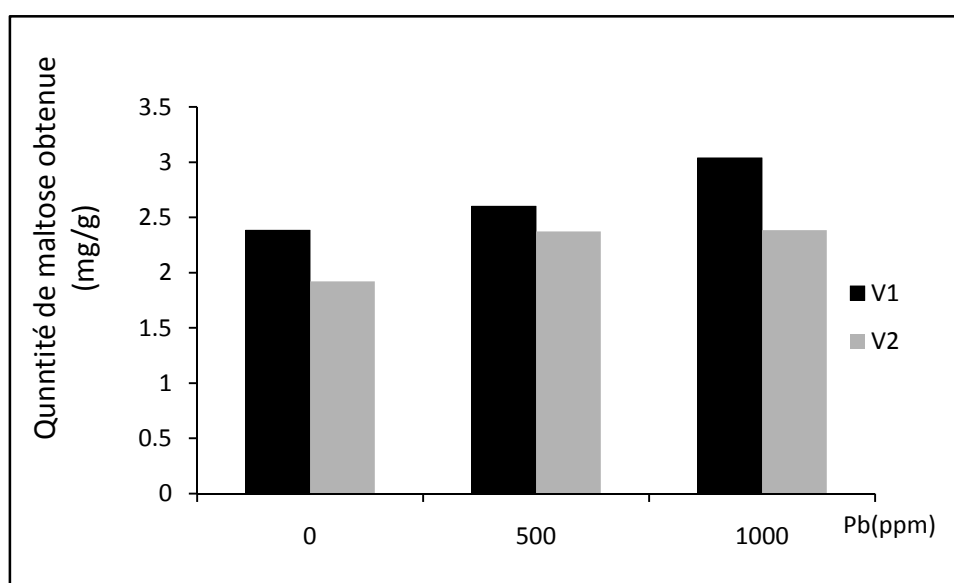
Les résultats moyens obtenus (Tab.6) montrent que l'activité des  $\alpha$ -amylases est significativement influencée par le milieu de germination et la nature de la variabilité conduite. Ainsi, l'application du plomb à concentrations croissantes dans les milieux de germination, s'accompagne d'une nette augmentation de cette activité, qui s'annonce plus marquée chez le géotype Sidi Aïch que chez Super Aguadulce.

Les résultats moyens (Tab.6), montrent que chez le géotype Sidi Aïch l'accroissement de l'activité des  $\alpha$ -amylases est en étroite relation avec la dose de Pb appliquée dans le milieu. Ainsi cette activité progresse d'un taux de 9.14% et 27.49% respectivement dans les lots D1 et D2 en comparaison avec celle relevée dans le traitement témoin (D0).

Chez le géotype Super Aguadulce, on constate que l'application des dose croissante de Pb, enregistre des valeurs égales chez les graines issues des traitements D1 et D2, qui inscrivent des augmentations de l'ordre de 23.63% et 24.19% par rapport à celle enregistrée dans le lot témoin (Fig.13).

**Tableau n°6 :** L'activité des  $\alpha$ -amylases exprimée en quantité de maltose produite (mg/g) au niveau des graines des deux génotypes de *Vicia faba* exposés au plomb.

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Maltose (mg/g)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	2.38	-
	500	2.60	9.14
	1000	3.04	27.49
Sup Aguadulce	0	1.92	-
	500	2.37	23.63
	1000	2.38	24.19



**Figure n°13 :** l'évolution de la dégradation de l'amidon des deux génotypes V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500, 1000 ppm).

### 3. La longueur de la racine

L'analyse des résultats (Tab.7) montre que la longueur de la racine est influencée par la présence de plomb dans le milieu ( $p < 0.05$ ). Ainsi, l'application du plomb réduit significativement la croissance en longueur de la racine. Le facteur génotype affecte également l'élongation de la racine, et présente un effet significatif ( $p < 0.05$ ). L'interaction entre les deux facteurs étudiés, n'affecte cette élongation que faiblement ( $p > 0.05$ ). Ce qui indique que les graines des deux génotypes manifestent des réponses similaires à l'égard du stress appliqué.

**Tableau n°7** : L'analyse de la variance de la longueur de la racicule

Variables	Test F	Probabilité (p)
Dose de Pb (F1)	7.289	0.019*
Génotype (F2)	6.918	0.010*
Interaction (F1*F2)	0.576	0.581ns

ns Non significatif

\* Significatif

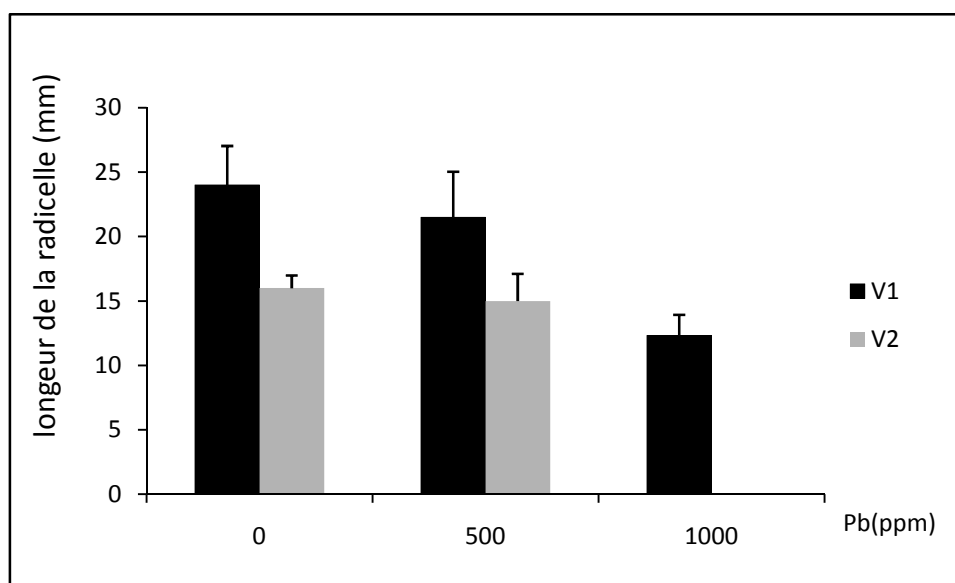
Les résultats moyens (Tab.8) montrent que l'application des doses croissantes de Pb dans le milieu de germination induit une diminution de la longueur des racicules. La diminution enregistrée est très différente à travers les génotypes testés.

Chez le génotype Sidi Aïch, on enregistre pour le témoin une longueur évaluée à 24mm. Pour les lots D1 et D2, les valeurs moyennes sont respectivement évaluées à 21.50 et 12.33mm inscrivants des diminutions respectives par rapport au témoin de l'ordre de 10.42% et 48.61.

Chez le génotype Super Aguadulce, les valeurs moyennes de la longueur de la racicule sont plus faibles par rapport à celles enregistrées par le premier génotype (Fig.14). De plus, on a signalé une absence de l'apparition des racicules pour le lot D2 (1000ppm). Le lot D1 enregistre une moyenne évaluée à 15mm avec une diminution de l'ordre de 6.25% par rapport au témoin qui enregistre 16mm.

**Tableau n°8**: longueur de la racicule en (mm) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type.

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Longueur de la racicule (mm)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	24.00 $\pm$ 3.04	-
	500	21.50 $\pm$ 3.54	-10.42
	1000	12.33 $\pm$ 1.61	-48.61
Sup Aguadulce	0	16.00 $\pm$ 1.00	-
	500	15.00 $\pm$ 2.12	-6.25
	1000	0.00 $\pm$ 0.00	-100



**Figure n°14:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la longueur de la racicule (mm) des deux génotypes V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500, 1000 ppm).

#### o Discussion

Les plantes exposées au plomb présentent plusieurs anomalies sur le processus de la germination (Kopittke et *al.*, 2007). L'action dépressive de ce métal sur la germination est signalée par plusieurs auteurs (Mishra and Choudhuri, 1998; Wierzbicka et Obidzinska, 1998; Tomulescu et *al.*, 2004, Islam et *al.*, 2007; Luan et *al.*, 2008; Sengar et *al.* 2009 ; Wang et *al.*, 2010). Même à de faibles concentrations, le plomb conduit souvent à la diminution du taux de la germination, de l'indice de germination et de la longueur des racines et des tiges des jeunes plants (Sharma et Dubey, 2005), une réduction de la germination de l'ordre de 10.23% a été observée sur les plants de *Sinapis arvensis* L. traitées par 150 $\mu$ M de Pb (Heidari et Sarani, 2011). En présence de fortes concentrations (1mM), la germination des graines du riz est réduite de 14 à 30%, et la longueur des radicelles de 13 à 45% (Verma et Dubey, 2003).

Conformément à nos résultats, Shafiq et *al.*, (2008) ont signalé un effet significatif du Pb sur la germination *Leucaena leucocephala* (faux mimosa) ( $p < 0.05$ ), même observations est attribuée au Pb sur les plants de *Albizia lebbbeck* L. (Farooqi et *al.*, 2009).

Ainsi, pour l'imbibition des graines, les lots traités à 500 et 1000ppm inscrivent des augmentations respectives de 15.6% et 8.10% par-rapport au témoin chez Sidi Aïch, et de 2.83% et 14.76%.

L'activité de l'  $\alpha$ -amylase est fortement influencée par l'application du plomb dans le milieu de germination. Ainsi, on signale une nette augmentation de l'activité des amylases accompagnant l'application du plomb dans le milieu de germination des graines. On constate des comportements différents de la variabilité conduite dans le déroulement de ce processus. A l'application d'une dose de 500ppm de  $Pb(NO_3)_2$ , la divergence de l'activité des amylases s'avère plus prononcée chez Super Agadulce inscrivant une différence de 14.49% en comparaison avec Sidi Aïch, dans les mêmes conditions. Cette comportementale s'avère moins prononcée à dose plus élevée (1000ppm). Les accumulations des sucres observées est la résultante de l'accélération de l'hydrolyse des réserves d'amidon (Bhushan et Gupta, 2008 ; Shafiq et *al.*, 2008 ; Farooqi et *al.*, 2009 ; Heidari et Sarani, 2011), cette accélération est favorisée par l'action Pb sur l'activité des enzyme amylo-lytiques et aussi par la non utilisation de ces sucres par l'embryon (Bhushan et Gupta, 2008).

Les résultats de cette étude montrent que l'application du plomb provoque une inhibition de l'élongation de la racicule ( $r=-0.63^*$ ). Chez le génotype Super Aguadulce, l'application d'une dose de 1000ppm inhibe totalement l'activité du méristème, pour la croissance en longueur de la racicule. Cette inhibition s'explique selon Heidari et Sarani (2011), par inhibition de la mitose, la réduction de la synthèse des composés de la paroi cellulaire, des dommages à l'appareil de Golgi et par des changements dans le métabolisme de polysaccharide.

## II. Deuxième Essai : Effet de plomb sur les paramètres morphologiques, physiologiques et anatomiques de la fève

### 1. Effet du plomb sur les paramètres physiologiques

#### 1.1. Teneur en eau relative (RWC).

##### o Application 1

L'analyse des résultats (Tab.9) montre que le teneur en eau relatif est significativement influencé par l'augmentation de la dose de Pb ( $p < 0.05$ ). Le facteur génotypique affect la variation de ces teneurs d'une manière très hautement significative ( $p < 0.005$ ). L'interaction entre les deux facteurs d'étude (dose de plomb \* génotype) n'a aucun effet sur la variation de la RWC. Cela indique que les deux génotypes se sont comportés d'une manière identique vis-à-vis de l'application de ce stress.

**Tableau n°9** : probabilité «  $p$  » de l'analyse de la variance des paramètres physiologiques des deux génotypes étudiés.

Variables	Application 1			Application 2		
	Dose de Pb (F1)	Génotype (F2)	Interaction (F1xF2)	Dose de Pb (F1)	Génotype (F2)	Interaction (F1xF2)
<b>Paramètres physiologiques</b>						
RWC	0.002***	0.028*	0.426ns	0.004***	0.001***	0.019*
Chloro a	0***	0,001***	0.837ns	0,072ns	0,017*	0,878ns
Chloro b	0,403ns	0,754ns	0,917ns	0,123ns	0.028*	0,980ns
Chloro a+b	0***	0***	0.463ns	0,080ns	0,018*	0,913ns
Caroténoïde	0***	0,183ns	0,733ns	0,132ns	0,090ns	0,916ns
Protéines totales	0***	0***	0***	0***	0***	0.11ns
Proline	0.031*	0.016*	0.628ns	0.044*	0.001***	0.120*
Sucres Solubles	0.631ns	0.014*	0.472ns	0.003***	0.358ns	0.896ns
Potentiel Osmotique	0.315ns	0.016*	0.212ns	0***	0***	0***

ns Non significatif

\* Significatif

\*\* Hautement significatif

\*\*\* Très hautement significatif

Les résultats moyens (Tab.10) montrent que l'application des doses croissantes du Pb induit une légère diminution de la teneur en eau relative. L'aspect de cette diminution est différent en fonction des génotypes étudiés (Fig.15).

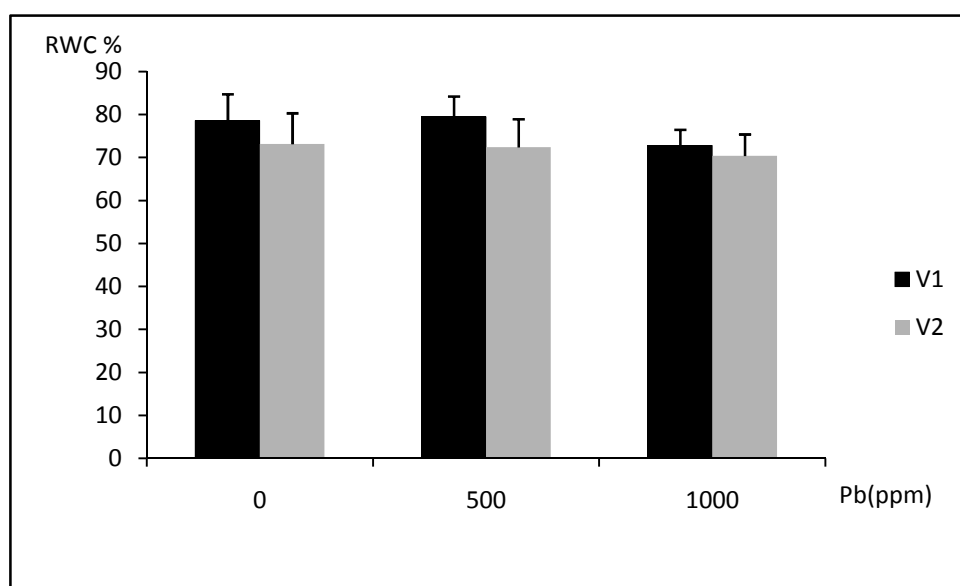
Pour le génotype Sidi Aïch, on signale pour le témoin une teneur moyenne en eau relative de l'ordre de 78.59%. Pour le lot D1, on signale une légère progression, et la moyenne enregistrée atteint 79.5% exprimant une augmentation de 1.19% par rapport au témoin.

Puis, pour le lot D2, on signale une teneur relative évaluée à 72.82% avec une régression de l'ordre de 7.33%.

Pour le génotype Super Aguadulce, on signale des teneurs moyennes en RWC plus-ou-moins faibles, par rapport au premier génotype. Ainsi, pour le lot témoin, cette teneur est de 73.13%. Dans les niveaux D1 et D2, ces valeurs sont respectivement 72.42% et 70.43%, enregistrant des régressions respectives de l'ordre de 0.99% et 3.72%.

**Tableau n°10 :** Teneur en eau relative (RWC) dans les feuilles des deux Génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type.

Génotype	Dose de Pb (ppm)	RWC (%)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	78.59 $\pm$ 6.21	-
	500	79.50 $\pm$ 4.75	1.19
	1000	72.82 $\pm$ 3.69	-7.33
Sup Aguadulce	0	73.13 $\pm$ 7.22	-
	500	72.42 $\pm$ 6.55	-0.99
	1000	70.43 $\pm$ 4.99	-3.72



**Figure n°15:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la RWC (%) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).



○ **Application 2**

Les variations de la teneur en eau relative enregistrées pour l'application 2 (Tab.9), sont très influence par le l'augmentation de la dose de Pb ajouté ( $p < 0.005$ ). Ces variations sont également très influencées par le facteur génotype ( $p < 0.005$ ). L'interaction entre les deux facteurs d'étude conditionne l'évolution de ce paramètre d'une manière significative ( $p < 0.05$ ), ce qui indique que les deux génotypes réagissent différemment à l'égard de l'application du stress par le plomb.

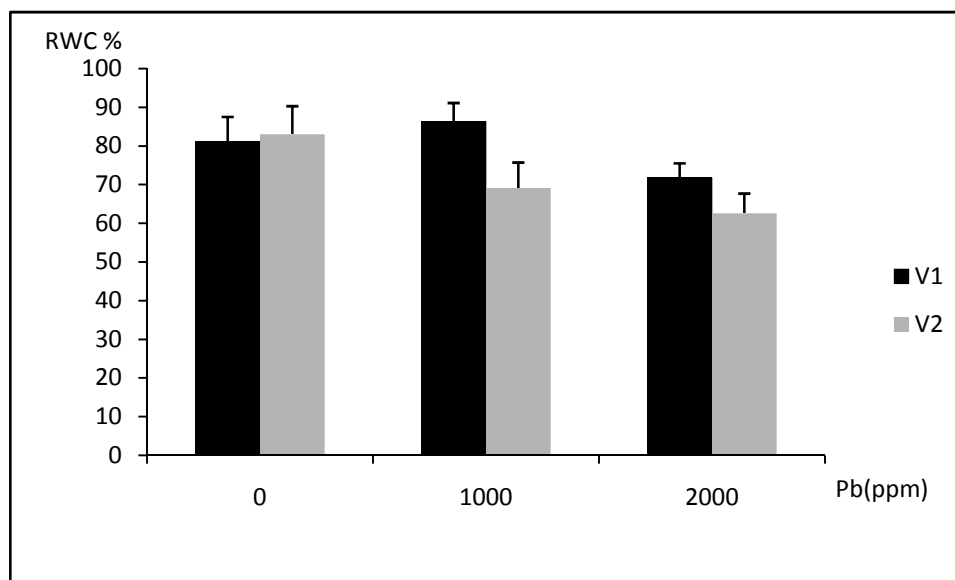
Les résultats des moyennes (Tab.11) montrent que l'application des doses croissantes en Pb, implique une diminution de la teneur en eau relative (à l'exception du lot D1 pour le premier génotype).

Pour le génotype Sidi Aïch, on signale pour le témoin une moyenne de la RWC de l'ordre de 81.22%. Le lot D1 enregistre la plus grande valeur qui atteint 86.32% révélant une augmentation de 6.28% par rapport au témoin. Pour le lot D2 la moyenne relative retenue est de 71.73% exprimant ainsi, une réduction de l'ordre de 11.68%.

Le génotype Super Agudulce enregistre des teneurs en eau relative plus faible par rapport au génotype Sidi Aïch (Fig.16). Ainsi, pour le lot témoin, on signale une teneur moyenne de la RWC évaluée à 83.04%. Pour les niveaux D1 et D2, ces valeurs sont avec un ordre respectif, évaluées à 69.1% et 62.61%, exprimant une diminution de 16.79% et 24.6% par rapport au témoin.

**Tableau n°11 :** Teneur en eau relative (RWC) dans les feuilles des deux Génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	RWC (%)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	81.22 $\pm$ 1.41 <sup>A</sup>	-
	1000	86.32 $\pm$ 2.32 <sup>A</sup>	6.28
	2000	71.73 $\pm$ 0.50 <sup>B</sup>	-11.68
Sup Agudulce	0	83.04 $\pm$ 2.79 <sup>A</sup>	-
	1000	69.10 $\pm$ 2.99 <sup>B</sup>	-16.79
	2000	62.61 $\pm$ 2.88 <sup>B</sup>	-24.60



**Figure n°16:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la RWC (%) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

#### o Discussion

La teneur en eau des organes représente un excellent indicateur physiologique pour estimer l'état d'hydratation des plantes face aux contraintes abiotiques. L'effet du plomb se traduit par une action dépressive sur les teneurs en eau des feuilles, ces valeurs sont affectées par la présence du plomb dans le milieu, et elles restent en générale inférieures à celles enregistrée pour le témoin.

Les valeurs de la RWC enregistrent un coefficient de corrélation significatif et négatif ( $r=-0.27^*$  pour l'application une et  $r=-0.65^*$  pour la seconde application). En générale, ces teneurs restent très affectées par l'ampleur et l'intensité du stress. Les valeurs enregistrées pour le génotype Sidi Aïch sont supérieures à celles enregistrées par le génotype Super Aguadulce (Fig.15-16.). Ce qui indique que Sidi Aïch parvient à réguler mieux son état hydrique au niveau du lot D1 au-delà du quel, son statut hydrique s'abaisse similairement au génotype Super Aguadulce, ce dernier reste vulnérable face à l'application de grandes doses.

La diminution de la teneur en eau sous le stress induit par le plomb, semble indiquée une difficulté de l'ajustement de l'état hydriques des plantes suite à la fermeture des stomates (Brunet et *al.*, 2008) qui semble être sous l'effet des phytohormones ABA (acide abscissique) (Roelfsema et Hedrich, 2005). De même, il pourrait être due à la morphologie des stomates (de petites tailles) (Weryszko-Chmielewska et Chwil, 2005) se

qui réduit leurs rendement, et influe fortement sur divers processus tels que la photosynthèse (Cecchi, 2008).

Le plomb limite les pertes en eau de la plante par transpiration. Cette limitation de la transpiration, moteur principal de la circulation de la sève brute et par conséquent d'eau, conduit à une diminution de la teneur en eau des plantes (Pourrut, 2008).

## 1.2. Potentiel osmotique ( o )

### o *Application 1*

L'analyse de la variance (Tab.9) montre que le potentiel osmotique est sous la dépendance de l'intensité du stress appliqué ( $p < 0.05$ ). Ces variations sont moins influencées par le facteur génotypique et par l'interaction entre les deux facteurs d'étude ( $p > 0.05$ ), ce qui révèle que les deux génotypes manifestent une réponse similaire à l'égard du stress plombé.

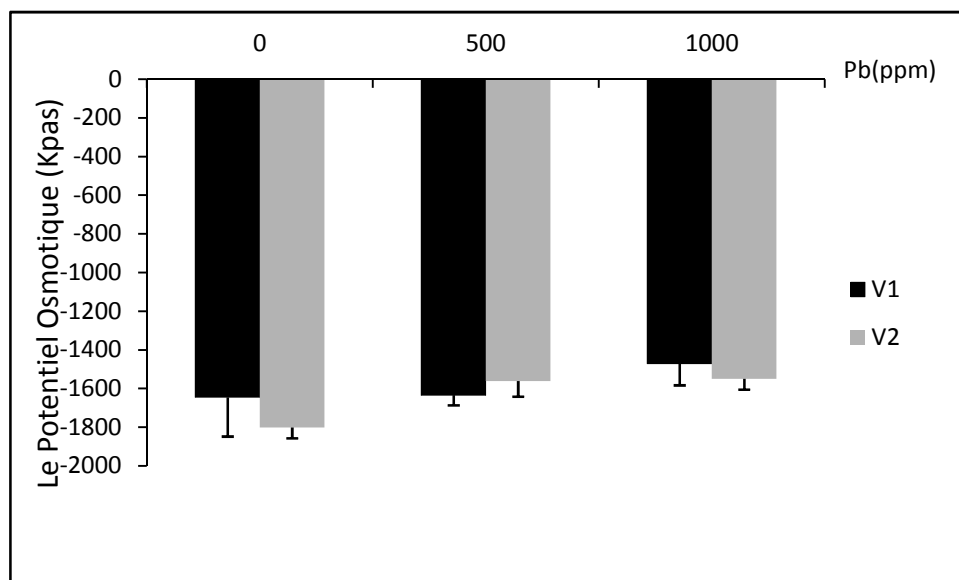
Les résultats exprimés en moyennes (Tab.12) indiquent que l'application du Pb en dose croissantes est à la source d'une augmentation du potentiel osmotique interne des feuilles. Ces augmentations sont différentes en fonction des génotypes étudiés (Fig.17).

Pour le génotype Sidi Aïch, on enregistre pour le témoin, une valeur du potentiel évaluée à -1645.67Kpas. Dans les lots D1 et D2, la progression du potentiel atteint respectivement -1635 et -1472Kpas exprimant des augmentations de l'ordre de 0.65% et 10.55%.

Chez le génotype Super Aguadulce, les moyennes du potentiel osmotique enregistrées sont d'un ordre plus important, en comparaison avec celles enregistrées pour le génotype Sidi Aïch. Ainsi, dans le lot témoin, la moyenne enregistrée est de -1801.67Kpas. Dans les traitements D1 et D2, ces valeurs sont respectivement de -1561.00 et -1550.33Kpas, inscrivant une augmentation de l'ordre de 13.36 et 13.95%.

**Tableau n°12 :** Potentiel osmotiques en Kpas des les feuilles des deux Génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Potentiel Osmotique (Kpas)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	-1645.67 $\pm$ 203.39	-
	500	-1635.00 $\pm$ 52.46	-0.65
	1000	-1472.00 $\pm$ 111.97	-10.55
Sup Aguadulce	0	-1801.67 $\pm$ 56.87	-
	500	-1561.00 $\pm$ 82.29	-13.36
	1000	-1550.33 $\pm$ 55.79	-13.95



**Figure n°17** : l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du potentiel osmotique (Kpas) de V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

#### o Application 2

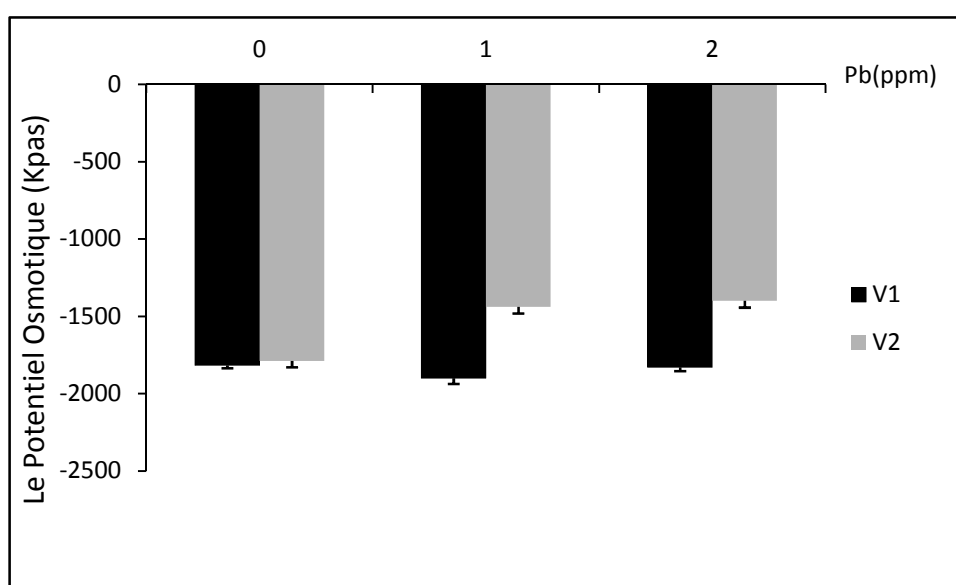
L'augmentation de la dose de Pb ajouté (Tab.9) affecte largement les variations du potentiel osmotique cellulaire ( $p < 0.005$ ). Même observation est à noter pour le facteur génotypique et l'interaction entre les deux facteurs d'étude ( $p < 0.005$ ). Ceci indique que la variation du potentiel osmotique est différente en fonction du génotype expérimenté, et que les deux génotypes manifestent des réponses différentes à l'égard du stress du plomb appliqué.

Les résultats obtenus (Tab.13) montrent que l'augmentation des doses de Pb appliquées provoque des évolutions divergentes du potentiel osmotique en fonction des génotypes testés.

Anisi, chez le génotype Sidi Aïch, au niveau du le lot témoin, le potentiel osmotique s'estime à -1817.33Kpas. Dans les lots D1 et D2, on signale des diminutions du potentiel qui atteignent respectivement -1900 et -1829Kpas manifestant ainsi des régressions de l'ordre de 4.55% et 0.64%. Chez le génotype Super Aguadulce, les valeurs enregistrées du potentiel osmotique sont moins faibles, en comparaison avec le premier génotype (Fig.18). Ainsi, pour le lot témoin, cette valeur est de l'ordre de -1788.33Kpas. Dans les traitements D1 et D2, les potentiels exprimés sont évalués respectivement à -1438.33 et -1398Kpas, inscrivant des progressions de l'ordre de 19.57% et 21.83%.

**Tableau n°13 :** Potentiel osmotiques en Kpas des les feuilles des deux Génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Potentiel Osmotique (Kpas)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	-1817.33 $\pm$ 18.90 <sup>B</sup>	-
	1000	-1900.00 $\pm$ 37.32 <sup>C</sup>	4.55
	2000	-1829.00 $\pm$ 25.12 <sup>B</sup>	0.64
Sup Aguadulce	0	-1788.33 $\pm$ 41.04 <sup>B</sup>	-
	1000	-1438.33 $\pm$ 44.02 <sup>A</sup>	-19.57
	2000	-1398.00 $\pm$ 45.21 <sup>A</sup>	-21.83



**Figure n°18 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du potentiel osmotique (Kpas) de V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

#### o Discussion

Dans la présente étude, on signale une augmentation du potentiel hydrique en fonction des doses appliquées. Pour la première application cette augmentation est corrélée significativement avec la dose de plomb appliquée ( $r=0.64^*$ ), avec un effet significatif de ce facteur sur les variations de ce paramètre. Ces augmentations atteignent, pour le premier génotype 0.65% pour le lot D1 et 10.55% pour D2. Le deuxième génotype, enregistre pour D1 et D2 une augmentation aux alentours de 13%.

Pour la deuxième application, on enregistre une influence très hautement significative de la l'intensité du Pb appliqué sur la variation du potentiel osmotique. Cette influence évolue dans le sens positif, mais elle reste non significative avec un coefficient de corrélation

( $r=0.38ns$ ). Ceci est suite à la manifestation très importante de la réponse de la variation génotypique. Les lots traités du génotype Sidi Aïch, enregistre des diminutions. Par contre, chez le génotype Super Aguadulce, les lots traités expriment des progressions qui dépassent 21% (pour le lot D2).

De nombreuses études ont mis en évidence une perturbation importante du statut hydrique des plantes traitées au plomb. Elles ont principalement relevé une diminution de la transpiration, y compris à de faibles doses, ainsi qu'une diminution de la teneur en eau (Pourrut, 2008 ; Brunet et *al.*, 2009).

Le plomb peut minéraliser la paroi cellulaire, diminuant ainsi sa plasticité, et par conséquent influençant le potentiel hydrique des cellules. Ce phénomène est accentué par la diminution observée des concentrations en molécules maintenant la turgescence cellulaire (Barcelo et Poschenrieder, 1990). Pour maintenir la turgescence de ces cellules, la plante synthétise massivement des osmolytes, et en particulier de la proline (Qureshi et *al.*, 2007 ; ; Azooz et *al.*, 2011). En plus, les perturbations du statu hydrique conduisant à la fermeture des stomates (Brunet et *al.*, 2008) suite à l'implication de la sécrétion de l'acide abscissique induit par la présence de plomb (Parys et *al.*, 1998; Atici et *al.*, 2005). Ceci limite fortement les échanges gazeux avec l'atmosphère, et par conséquent les pertes d'eau par transpiration (Parys et *al.*, 1998; Vassil et *al.*, 1998).

### 1.3. Taux des pigments photosynthétiques.

#### 1.3.1. Taux de la chlorophylle a

##### ○ *Application 1*

L'analyse de variance (Tab.9) montre que le taux de la chlorophylle a est sous la dépendance de l'intensité du stress de plomb appliqué ( $p < 0.005$ ). Le facteur génotypique exerce aussi un effet très hautement significatif ( $p < 0.005$ ) sur la variation de ce paramètre. Par contre, l'interaction entre les deux facteurs d'étude n'affecte que faiblement ( $p > 0.05$ ) le taux de la chlorophylle a. Ce qui indique, que les deux génotypes testées manifestent des réponses similaires à l'égard du stress appliqué.

Les valeurs moyennes du taux de la chlorophylle a (Tab.14) diminuent sous l'action de l'intensité de la dose du plomb appliquée (à l'exception de D1 pour Sidi Aïch). L'ampleur de cette diminution est différente selon les génotypes expérimentés.

Pour le génotype Sidi Aïch, on signale au niveau du lot traitement un taux moyen de la chlorophylle a de l'ordre de 9.72mg/g. Pour le niveau de traitement D1, on signale une progression qui atteint 10.30mg/g exprimant une augmentation par rapport au témoin de l'ordre de 5.98%. Pour le lot D2, la moyenne enregistrée est de 7.65mg/g manifestant une régression de l'ordre de 21.26%.

Chez le génotype Super Aguadulce, on signale des taux moyens de la chlorophylle a faibles par rapport au premier génotype. Le lot témoin enregistre une moyenne évaluée à 6.86mg/g. Dans les lots D1 et D2, les valeurs moyennes sont respectivement évaluées à 6.81 et 3.97mg/g, exprimant ainsi, des diminutions de l'ordre de 0.76 et 42.15%.

**Tableau n°14:** Taux de la chlorophylle a en mg/g des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Chlorophylle A (mg/g)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	9.72 $\pm$ 3.59	-
	500	10.30 $\pm$ 1.66	5.89
	1000	7.65 $\pm$ 1.81	-21.26
Sup Aguadulce	0	6.86 $\pm$ 2.79	-
	500	6.81 $\pm$ 0.92	-0.76
	1000	3.97 $\pm$ 1.91	-42.15

○ **Application 2**

L'analyse des résultats (Tab.9) montre que, le taux de la chlorophylle a est influencé par l'intensité des doses de Pb ajoutées dans le milieu ( $p < 0.05$ ). Le facteur génotypique et l'interaction entre les deux facteurs d'étude n'affectent que faiblement la variation de ce paramètre ( $p > 0.05$ ).

Les valeurs moyennes (Tab.15) montrent que l'application des doses croissantes de Pb implique une diminution du taux de la chlorophylle a. L'allure de cette diminution est d'une grandeur différente à travers les deux génotypes testés.

Chez le génotype Sidi Aïch, dans le lot témoin, le taux de la chlorophylle a s'évalue à 17.28mg/g. Dans les traitements D1 et D2, la diminution des taux atteint respectivement 13.41 et 11.30mg/g, exprimant ainsi, des régressions de l'ordre de 22.41 et 34.58%.

Chez le génotype Super Aguadulce, les taux de la chlorophylle a sont plus faibles que ceux enregistrés chez le premier génotype. Ainsi, le lot témoin enregistre 14.83mg/g de moyenne. Dans les lots D1 et D2, les taux de la chlorophylle a, atteint respectivement 9.46 et 9.05mg/g, exprimant des diminutions de l'ordre de 36.19 et 38.93%.

**Tableau n°15:** Taux de la chlorophylle a en mg/g des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Chlorophylle A (mg/g)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	17.28 $\pm$ 4.15	-
	1000	13.41 $\pm$ 3.17	-22.41
	2000	11.30 $\pm$ 0.68	-34.58
Sup Aguadulce	0	14.83 $\pm$ 4.27	-
	1000	9.46 $\pm$ 3.28	-36.19
	2000	9.05 $\pm$ 1.50	-38.93

### 1.3.2. Taux de la chlorophylle b

○ **Application 1**

L'analyse des résultats (Tab.9) montre que, le taux de la chlorophylle b n'est pas influencé par la variation de la dose de plomb appliquée ( $p > 0.05$ ). Le facteur génotypique et l'interaction entre les deux facteurs d'étude (dose de Pb \* génotype) ont également un effet non significatif sur le taux de la chlorophylle b ( $p > 0.05$ ).



Malgré l'indépendance observée de la chlorophylle b à l'égard des facteurs étudiés, on constate (Tab.16) des variations notables des moyennes. L'allure de ces variations est différente à travers les génotypes testés.

Chez Sidi Aïch, le lot témoin enregistre un taux moyen de la chlorophylle b évalué à 1.75mg/g. Dans le lot D1, le taux moyen atteint 1.98mg/g exprimant une progression de l'ordre de 13.08%. Par contre, le lot D2 enregistre une moyenne évaluée à 1.36mg/g, exprimant une diminution de l'ordre de 22.06%.

Chez le génotype Super Agudulce, les taux de la chlorophylle b sont plus faibles que ceux enregistrés pour le premier génotype. Ainsi, le lot témoin enregistre 1.53mg/g de moyenne. Dans les lots D1 et D2, les taux de la chlorophylle b, arrivent respectivement à 1.33 et à 0.83mg/g, exprimant ainsi, des diminutions de l'ordre de 26.48 et 45.65%.

**Tableau n°16:** Taux de la chlorophylle b en mg/g des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (g/Kg de sol)	Chlorophylle b (mg/g)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	1.75 $\pm$ 2.68 <sup>NS</sup>	-
	500	1.98 $\pm$ 2.27 <sup>NS</sup>	13.08
	1000	1.36 $\pm$ 3.27 <sup>NS</sup>	-22.06
Sup Agudulce	0	1.53 $\pm$ 2.58 <sup>NS</sup>	-
	500	1.13 $\pm$ 1.69 <sup>NS</sup>	-26.48
	1000	0.83 $\pm$ 1.64 <sup>NS</sup>	-45.65

#### o Application 2

Les résultats de l'analyse (Tab.9) montrent que les variations de la chlorophylle b sont significativement influencées par la contamination en Pb ( $p < 0.05$ ). Le facteur génotypique et l'interaction entre les deux facteurs d'étude, n'influent que légèrement sur ces variations. Ceci indique que les deux génotypes manifestent des réponses identiques face au présent stress.

Les résultats moyens (Tab.17) montrent que l'application des doses de Pb croissantes induit à une diminution des taux de la chlorophylle b. Cette diminution est d'une grandeur différente à travers les deux génotypes.

Chez le génotype Sidi Aïch, au niveau du lot témoin, le taux de la chlorophylle b enregistré est de 5.59mg/g. Dans les traitements D1 et D2, ces taux atteignent respectivement 3.96 et 3.71mg/g inscrivants ainsi des régressions de l'ordre de 26.16 et 33.63%.

Chez Super Aguadulce, les taux de la chlorophylle b sont plus faibles, en comparaison avec le premier génotype. Le lot témoin enregistre une valeur moyenne de l'ordre de 4.79mg/g. Dans les lots D1 et D2, le taux de la chlorophylle b atteint dans un ordre respective 2.88 et 2.80mg/g, ces valeurs expriment des diminutions de l'ordre de 39.85% et 41.55% par rapport au témoin.

**Tableau n°17:** Taux de la chlorophylle b en mg/g des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 2000). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Chlorophylle b (mg/g)	Evolution (%)
V1 (Sidi Aïch)	0	5.59 $\pm$ 1.84	-
	1000	3.96 $\pm$ 1.13	-26.16
	2000	3.71 $\pm$ 0.24	-33.63
V2 (Sup Aguadulce)	0	4.79 $\pm$ 1.68	-
	1000	2.88 $\pm$ 0.85	-39.85
	2000	2.80 $\pm$ 0.55	-41.55

### 1.3.3. Le taux de la chlorophylle a+b.

#### o Application 1

L'analyse des résultats (Tab.9) montre que le taux de la chlorophylle a+b est très dépendant de l'intensité du stress appliqué et aussi de la variabilité génotypique ( $p < 0.005$ ). Par contre, l'interaction entre les deux facteurs d'étude, n'exerce aucun effet significatif ( $p > 0.05$ ) sur la variation de ce taux. Cela témoigne d'une réaction similaire des deux génotypes testés à l'égard du plomb.

Les résultats moyens (Tab.18) montrent que l'application des doses croissantes de plomb, conditionne une diminution notable des taux de la chlorophylle a+b (à l'exception de D1 pour Sidi Aïch). Les deux génotypes testés expriment différemment cette diminution.

Chez le génotype Sidi Aïch, les plants issus du lot témoin expriment une moyenne évaluée à 11.47mg/g. Dans le traitement D1, on assiste à un accroissement du taux de la chlorophylle a+b qui atteint 12.28mg/g exprimant une augmentation de l'ordre de 7.06%. Par contre, le traitement D2 enregistre 9.01mg/g de moyenne, exprimant ainsi, une diminution par rapport au témoin, de l'ordre de 21.39%.

Chez le génotype Super Aguadulce, les valeurs du taux de la chlorophylle a+b sont moins importantes en comparaison avec celles enregistrées pour le génotype Sidi Aïch. Ainsi,

pour le témoin, la valeur enregistrée est évaluée à 8.39mg/g. Dans les lots D1 et D2, ces moyennes sont évaluées respectivement à 7.94 et 4.80mg/g, exprimant ainsi, des diminutions qui atteignent 5.49 et 42.79%.

**Tableau n°18:** Taux de la chlorophylle a+b en mg/g des feuilles des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (ppm)	Chlorophylle a+b (mg/g)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	11.47 $\pm$ 1.93	-
	500	12.28 $\pm$ 1.84	7.06
	1000	9.01 $\pm$ 2.64	-21.39
Sup Aguadulce	0	8.39 $\pm$ 1.28	-
	500	7.94 $\pm$ 1.28	-5.49
	1000	4.80 $\pm$ 1.08	-42.79

#### o Application 2

L'analyse des résultats (Tab.9) montre que le taux de la chlorophylle a+b est influencé par l'intensité du stress en plomb appliqué ( $p < 0.05$ ). Le facteur génotypique ainsi que l'interaction entre les deux facteurs affecte faiblement les variations de ce paramètre ( $p > 0.05$ ). Ce qui indique que les deux géotypes testés réagissent identiquement à la contrainte imposée par le Pb.

Les résultats moyens (Tab.19) montrent que l'application des doses de plomb croissantes induit une diminution du taux de la chlorophylle a+b. La manifestation de la grandeur de cette diminution est différente à travers les deux géotypes.

Chez le géotype Sidi Aïch, pour le lot témoin, le taux moyen enregistré s'évalue à 22.86mg/g. Pour les lots D1 et D2, les taux moyens enregistrés sont évalués dans un ordre respectif à 17.36 et 15.01mg/g, expriment ainsi des régressions de l'ordre de 24.06 et 34.35%.

Chez le géotype Super Agudulce, les valeurs moyennes du taux de la chlorophylle a+b sont plus faibles en comparaison avec le premier géotype. Ainsi, pour le témoin, la valeur moyenne enregistrée est de 19.62mg/g. Dans les traitements D1 et D2, la diminution de ces moyennes atteint respectivement 12.34 et 11.85mg/g exprimant ainsi des régressions de l'ordre de 37.08 et 39.57%.

**Tableau n°19:** Taux de la chlorophylle a+b en mg/g des feuilles des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (ppm)	Chlorophylle A+B (mg/g)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	22.86 $\pm$ 5.96	-
	1000	17.36 $\pm$ 4.28	-24.06
	2000	15.01 $\pm$ 0.48	-34.35
Sup Agudulce	0	19.62 $\pm$ 5.87	-
	1000	12.34 $\pm$ 4.13	-37.08
	2000	11.85 $\pm$ 2.05	-39.57

#### 1.3.4. Taux des caroténoïdes

##### o *Application 1*

L'analyse des résultats (Tab.9) montre que la variation des taux des caroténoïdes n'est pas influencée par la variation de la dose de plomb appliquée ( $p > 0.05$ ). Par contre, le facteur génotypique exprime un effet très hautement significative ( $p < 0.005$ ). L'interaction entre les facteurs étudiés, n'affecte que faiblement les variations de ce paramètre ( $p > 0.05$ ). Ce qui indique que les deux géotypes extériorisent une réponse similaire à l'égard du stress en présence.

Même si les variations du taux des caroténoïdes ne sont pas influencées par la variation de la dose de plomb, les valeurs moyennes enregistrées (Tab.20), témoignent d'une diminution en fonction de l'intensité du plomb ajouté. L'ampleur de cette diminution est d'une grandeur différente pour les géotypes expérimentés.

Chez le géotype Sidi Aïch, dans le lot témoin, le taux des caroténoïdes s'évalue à 4.37mg/g. Pour le lot D1, ce taux exprime une légère augmentation par rapport au témoin et inscrit 4.49mg/g de moyenne exprimant une progression de l'ordre de 2.80%. Dans le lot D2, la diminution du taux des caroténoïdes atteint 3.43mg/g, évaluant ainsi une régression de l'ordre de 21.46 par rapport au témoin.

Chez le géotype Super Agudulce, les valeurs moyennes du taux des caroténoïdes sont d'un ordre plus faible en comparaison avec le premier géotype. Ainsi, pour le témoin, ce taux est de 2.92mg/g. Dans les lots D1 et D2, ces valeurs atteignent respectivement 2.83 et 2.46 mg/g exprimant une diminution de l'ordre de 2.92 et 15.84%.

**Tableau n°20:** Taux des caroténoïdes en mg/g des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Caroténoïdes (mg/g)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	4.37 $\pm$ 2.36	-
	500	4.49 $\pm$ 1.01	2.80
	1000	3.43 $\pm$ 1.83	-21.46
Sup Aguadulce	0	2.92 $\pm$ 0.59	-
	500	2.83 $\pm$ 1.02	-2.92
	1000	2.46 $\pm$ 0.51	-15.84

○ **Application 2**

L'analyse des résultats pour la deuxième application (Tab .9) montre que le facteur dose de plomb, le facteur génotypique et l'interaction entre ces deux facteurs, n'exercent qu'un faible effet sur les variations du taux des caroténoïdes ( $p > 0.05$ ). L'effet non significatif de l'interaction entre les deux facteurs (dose de Pb \* génotype) est signe d'une réponse similaire des deux génotypes à l'égard du stress en plomb.

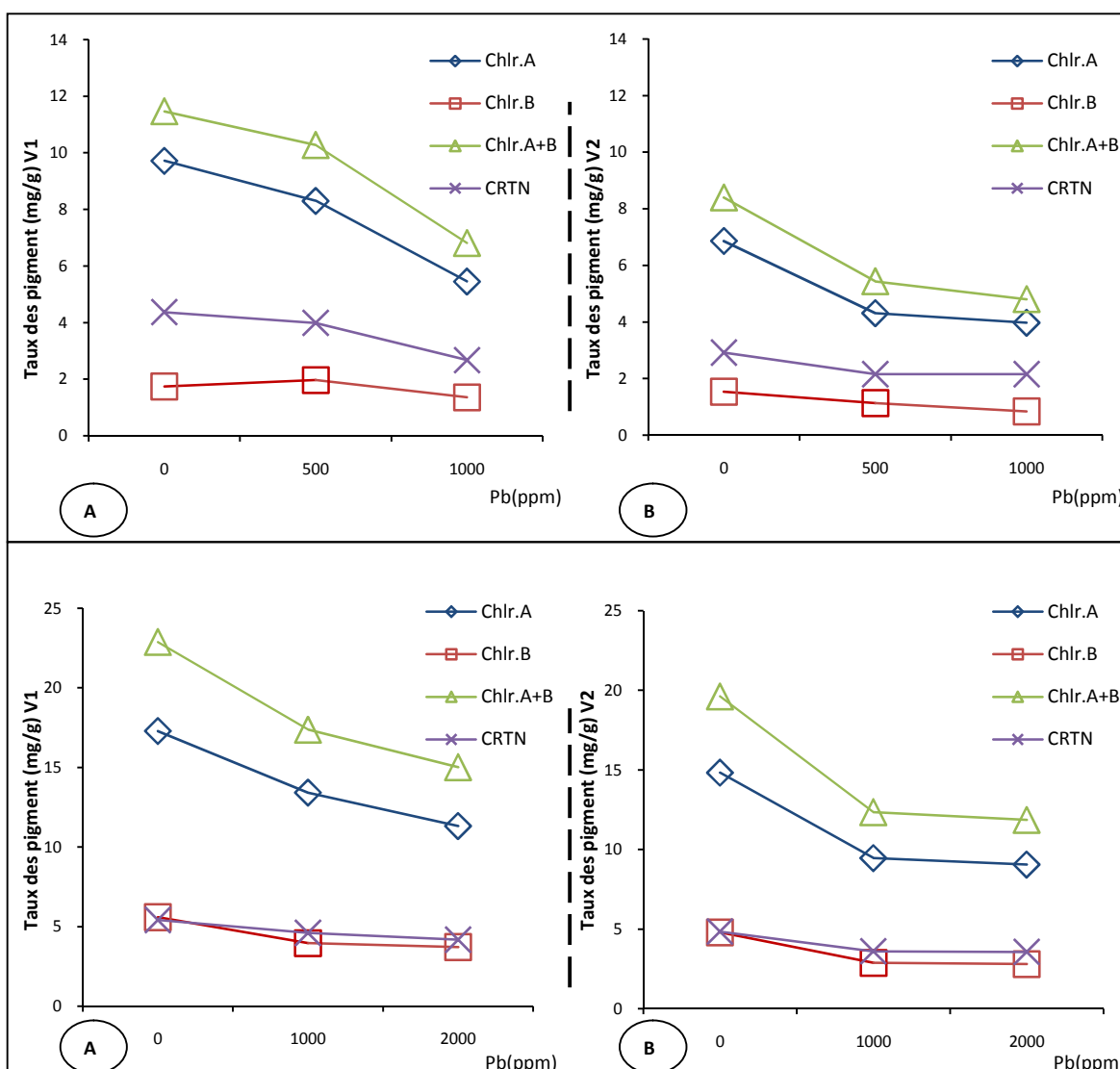
Même si la variation de la dose de plomb appliquée n'a pas grand effet sur le taux des caroténoïdes, le tableau des moyens (Tab.21) montre que l'application des doses croissantes de plomb induit à une diminution de ces taux. Ces diminutions sont d'une grandeur différente à travers les génotypes testés.

Chez le génotype Sidi Aïch, au niveau du témoin, le taux des caroténoïdes est évalué à 5.41mg/g. Dans les lots D1 et D2, ces taux arrivent respectivement à 4.59 et 4.17 mg/g exprimant des régressions de l'ordre de 15.11 et 22.98%.

Chez le génotype Super Agudulce, les valeurs moyennes du taux des caroténoïdes sont d'un ordre plus faible que pour le premier génotype. Ainsi pour le témoin, la valeur moyenne est évaluée à 4.84mg/g. Pour les lots D1 et D2, ces valeurs arrivent dans un ordre respectif à 3.61 et 3.57mg/g inscrivant ainsi des diminutions de l'ordre de 25.41 et 26.25%.

**Tableau n°21:** Taux des caroténoïdes en mg/g des feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Caroténoïdes (mg/g)	Evolution (%)
V1 (Sidi Aïch)	0	5.41 ± 0.77 <sup>NS</sup>	-
	1000	4.59 ± 1.23 <sup>NS</sup>	-15.11
	2000	4.17 ± 0.44 <sup>NS</sup>	-22.98
V2 (Sup Aguadulce)	0	4.84 ± 1.20 <sup>NS</sup>	-
	1000	3.61 ± 0.79 <sup>NS</sup>	-25.41
	2000	3.57 ± 1.04 <sup>NS</sup>	-26.25



**Figure n°19 :** Evolution des taux des pigments (chlorophylle a, B, A+B et caroténoïdes) en fonction de la dose de Pb (ppm) pour A : le génotype Sidi Aïch, B : le génotype Super Aguadulce (en haut les plantes sous la première application 0, 500 et 1000 ppm, et en bas sous la seconde application 0, 1000 et 2000 ppm).

○ *Discussion*

L'exposition des plants au plomb peut conduire à l'inhibition de la photosynthèse et à la réduction du rendement photosynthétique (Xiong *et al.*, 2006; Hu *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2008; Piotrowska *et al.*, 2009; Sing *et al.*, 2010; Cenkci *et al.*, 2010 ; Azooz *et al.*, 2011).

Les résultats obtenus montrent une régression significative en fonction de la dose de plomb présente dans le milieu, les travaux de Jiang Wang *et al.* (2010) montrent que le plomb peut diminuer le taux de la chlorophylle, mais cette diminution reste faible contrairement à la diminution observée en présence de Zn et Cu.

De même les résultats ont montrés également, une diminution des taux de pigments, cette diminution semble être très hautement significative pour la chlorophylle a et la chlorophylle a+b (la diminution de la chlorophylle a+b et le résultat de la diminution de la chlorophylle a). La diminution du taux des pigments est corrélée significativement avec la variation de la dose de plomb. Ainsi, on a signalé pour l'application 1, un coefficient de corrélation significatif pour la chlorophylle a ( $r=-0.34^*$ ) et pour la chlorophylle a+b ( $r=-0.42^*$ ). Pour la seconde application, on a enregistré un coefficient de corrélation significatif et négatif pour la chlorophylle a ( $r=-0.61^*$ ), pour la chlorophylle b ( $r=-0.57^*$ ), pour la chlorophylle a+b ( $r=-0.61^*$ ) et pour les caroténoïdes ( $r=-0.50$ ).

La chlorophylle a semble plus sensible à l'action du plomb que la chlorophylle b cela est en accord avec les résultats obtenus par Xiang *et al.* (2006) et Pourrut (2008).

La réduction des taux des pigments (en particulier la chlorophylle a et la chlorophylle a+b) est en accord avec les travaux réalisés sur la fève (Hedaya, 2008 ; Pourrut, 2008 ; Wang *et al.*, 2010), ou sur d'autres espèces (Gajic *et al.*, 2009).

La diminution des taux des pigments peut être le fruit d'une inhibition de la synthèse des chlorophylles par blocage des ions Mg, Mn et Fe (Chatterjee *et al.*, 2004; Gopal and Rizvi 2008). Ou par l'augmentation de l'activité de la chlorophyllase (Drazkiewicz, 1994 ; Liu *et al.*, 2008). Ou encore, la destruction des chloroplastes par les Espèces Réactive d'Oxygène (ERO) induit par la présence du plomb (Sharma *et al.*, 2005). Les travaux de Murkowski *et al.* (2008) sur *Cucumis sativa* et *Scenedesmus quadricauda* ont montrés que la diminution de l'activité photosynthétique est la résultante de l'inhibition du transport des électrons dans le photosystème deux (PSII).

#### 1.4. Teneur en sucres solubles.

##### ○ Application 1

L'analyse des résultats (Tab.9) montre que le taux des sucres solubles accumulés est significativement influencé par la présence du plomb ( $p < 0.05$ ). La variabilité conduite n'affecte que faiblement les variations de ce taux ( $p > 0.05$ ). L'interaction entre les deux facteurs (dose de Pb \* génotype) manifeste également, un effet non significatif sur le taux des sucres ( $p > 0.05$ ), ce qui montre que les réponses manifestées par les génotypes testés au présent stress, sont globalement identiques.

Les résultats moyens (Tab.22) affichent, que l'application des doses croissantes du plomb, induit une augmentation des taux des sucres solubles. L'allure de cette augmentation est d'une grandeur différent à travers les deux génotypes (Fig.20).

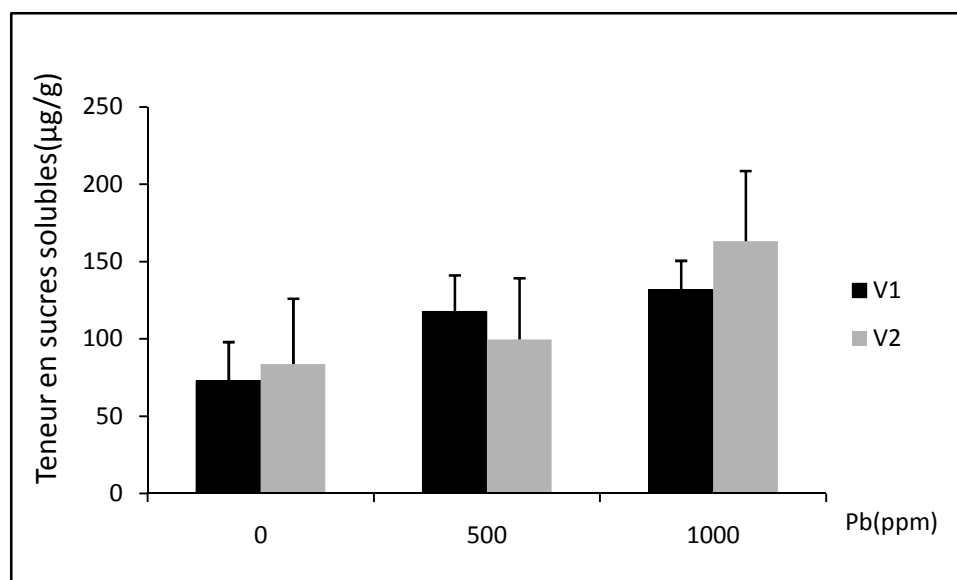
Le génotype Sidi Aïch, enregistre dans le lot témoin, un taux des sucres de  $72.86\mu\text{g/g}$ . Au niveau des traitements D1 et D2, ces taux s'évaluent successivement à  $117.81$  et  $131.71\mu\text{g/g}$  exprimant des augmentations respectives de l'ordre de  $61.70$  et  $80.78\%$ .

Chez le génotype Super Aguadulce, les taux moyens des sucres solubles sont plus importants que pour le premier génotype. Les plants issus du lot témoin expriment un taux de  $83.62\mu\text{g/g}$ . Ceux des traitements, D1 et D2, enregistrent des valeurs respectives de  $99.62$  et  $163.14\%$  exprimant une progression de  $19.13$  et  $95.10\%$ .

**Tableau n°22:** Teneur en sucres solubles en  $\mu\text{g/g}$  dans les feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Sucres solubles ( $\mu\text{g/g}$ )	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	$72.86 \pm 25.01$	-
	500	$117.81 \pm 23.15$	61.70
	1000	$131.71 \pm 18.74$	80.78
Sup Aguadulce	0	$83.62 \pm 42.33$	-
	500	$99.62 \pm 39.51$	19.13
	1000	$163.14 \pm 45.32$	95.10





**Figure n°20 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) des sucres solubles ( $\mu\text{g/g}$ ) des deux génotypes V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

#### o Application 2

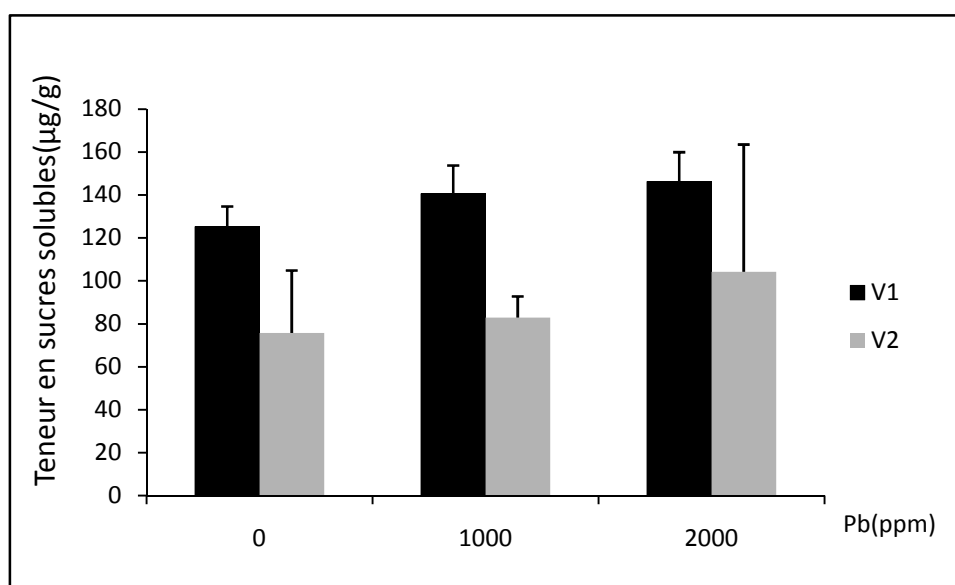
L'analyse de résultats (Tab.9) montre que les effets des facteurs d'étude sont de comportements différents que ceux exprimés lors de la première application. Ainsi, la teneur en sucres n'est que faiblement affectée par l'application des différentes doses du plomb ( $p > 0.05$ ), alors que la nature des génotypes testé provoque des variations très significatives ( $p < 0.005$ ). L'interaction entre les facteurs d'études ne permet, également que de faible grandeur, démontrant des comportements similaires des génotypes expérimentés à l'égard de l'application du stress métallique.

Les résultats moyens obtenus (Tab.23), montrent que chez le génotype Sidi Aïch, la teneur en sucres solubles, dans le lot témoin est d'une valeur de  $125.33\mu\text{g/g}$ . Cette teneur évolue dans les lots D1 et D2, pour atteindre des valeurs respectives de  $140.57$  et  $146.29\mu\text{g/g}$  exprimant des taux d'augmentation de  $12.16$  et  $16.72\%$ .

Chez le génotype Super Aguadulce, les teneurs en sucres solubles sont moins importantes que pour le premier génotype (Fig.21). Ainsi pour le lot témoin, la teneur moyenne est de  $75.71\mu\text{g/g}$ . Dans les traitements D1 et D2, ces teneurs sont évaluées dans un ordre respectif à  $82.95$  et  $104.19$  exprimant ainsi, des accroissements de l'ordre de  $9.56$  et  $37.61\%$ .

**Tableau n°23:** Teneur en sucres solubles en  $\mu\text{g/g}$  dans les feuilles des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (ppm)	Sucres solubles ( $\mu\text{g/g}$ )	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	125.33 $\pm$ 9.29	-
	1000	140.57 $\pm$ 13.12	12.16
	2000	146.29 $\pm$ 13.57	16.72
Sup Aguadulce	0	75.71 $\pm$ 29.15	-
	1000	82.95 $\pm$ 9.84	9.56
	2000	104.19 $\pm$ 59.27	37.61



**Figure n°21 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) des sucres solubles ( $\mu\text{g/g}$ ) des deux géotypes V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

#### o Discussion

Les recherches menées concernant l'effet du plomb sur la photosynthèse ont révélé des changements affectant plusieurs produits de cette dernière en particulier les oses (Govindjee, 1976 ; Gaw da, 2007). Les changements des taux des sucres solubles dans les tissus des plantes qui évoluent dans des environnements pollués par ce métal ne sont pas déterminés avec certitude (Gaw da, 2007). Certains auteurs (Huang et *al.*, 1974 ; Soheir et *al.*, 2002) ont détecté une diminution des sucres solubles, d'autres (Azouz et *al.*, 2011) ont signalé au contraire une augmentation en fonction des l'intensité du stress appliqué.

Les sucres solubles peuvent jouer un rôle dans la protection des chlorophylles et des caroténoïdes contre l'agressivité du stress métallique (Azouz et *al.*, 2011). Verma et

Dubey (2001) et Gaw da (2007) remettent cette accumulation à une adaptation très possible de la plante pour ajuster et maintenir un potentiel osmotique favorable. Ces hypothèses expliquent les résultats obtenus dans cette étude et qui démontrent que l'application du plomb s'accompagne d'une nette accumulation des sucres solubles. Cette accumulation reste toutefois conditionnée par la dose du plomb et l'époque de son application.

### 1.5. Taux des protéines totales.

#### o *Application 1*

L'analyse des résultats (Tab.9) montre que le taux des protéines totales des graines est largement influencé par la contamination en Pb, par le facteur génotypique ainsi que par l'interaction entre les deux facteurs ( $p < 0.005$ ).

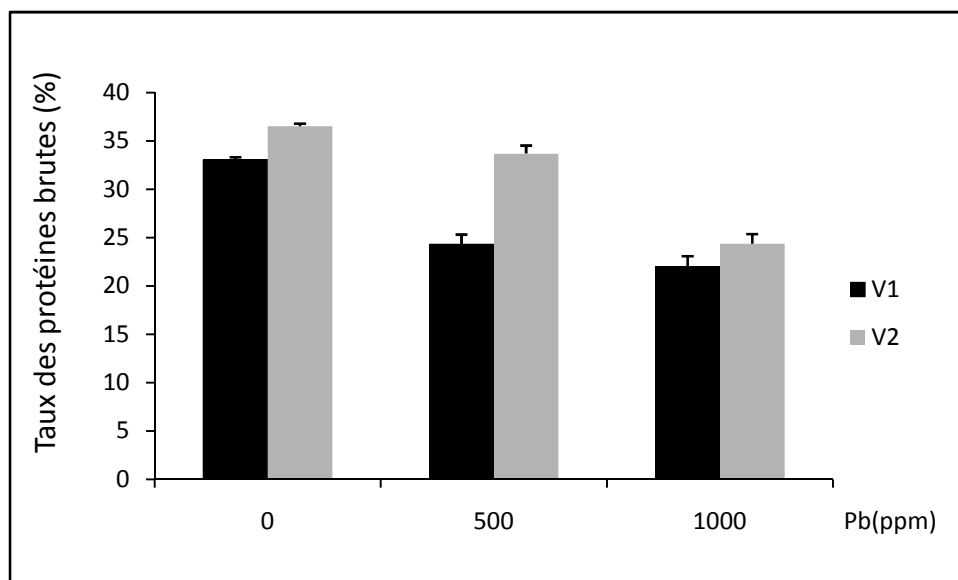
Les résultats moyens (Tab.24) indiquent que l'application des doses croissantes en Pb induit une diminution des taux des protéines dans les graines. La grandeur de cette diminution est différente à travers les deux génotypes (Fig.22).

Chez le génotype Sidi Aïch, pour le lot témoin, la moyenne enregistrée s'évalue à 33.06%. Pour les traitements D1 et D2, les valeurs moyennes enregistrées sont évaluées respectivement dans l'ordre 24.33 et 22.02%, inscrivant des diminutions par rapport au témoin, de l'ordre de 26.40% et 33.41%.

Chez le génotype Super Agudulce, les valeurs du taux des protéines sont plus importantes que celles enregistrées avec le premier génotype. Anis, pour le lot témoin, la valeur moyenne enregistrée est de 36.51%. Pour les lots D1 et D2, ces valeurs sont évaluées dans un ordre respectif à 33.67 et 24.37%, inscrivant une régression de l'ordre de 7.77% et 33.26%.

**Tableau n°24 :** Taux des protéines totales en % de la matière sèche de la graine des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $\bar{X} \pm S$ ) avec N=3, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Protéine (%)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	33.06 $\pm$ 0.22 <sup>B</sup>	-
	500	24.33 $\pm$ 0.96 <sup>C</sup>	-26.40
	1000	22.02 $\pm$ 1.05 <sup>D</sup>	-33.41
Sup Agudulce	0	36.51 $\pm$ 0.26 <sup>A</sup>	-
	500	33.67 $\pm$ 0.82 <sup>B</sup>	-7.77
	1000	24.37 $\pm$ 0.99 <sup>C</sup>	-33.26



**Figure n°22:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du taux des protéines brutes (%) de V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Agudulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

#### o Application 2

Les résultats de l'analyse (Tab.9) montrent que le taux des protéines est très influencé par l'intensité du plomb ajouté ( $p < 0.005$ ). Le facteur génotypique a également, un effet hautement significatif ( $p < 0.005$ ). L'interaction entre les deux facteurs (dose de Pb \* génotype), n'affecte que faiblement les variations de ce paramètre ( $p > 0.05$ ). Ce qui indique que les deux génotypes testés ont une réponse similaire à l'égard du stress en Pb imposée.

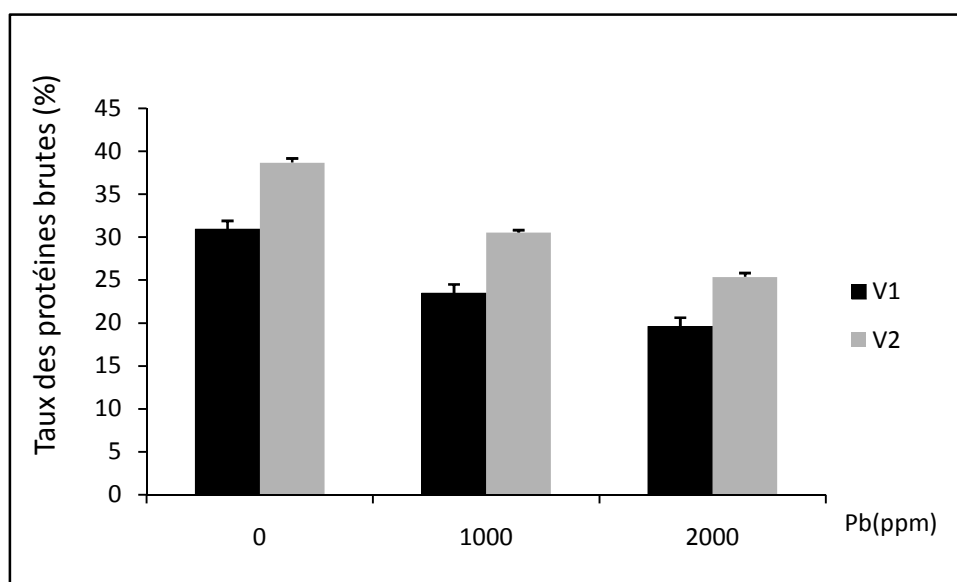
L'observation des résultats moyens (Tab.25) témoigne d'une diminution du taux des protéines en fonction de l'intensité des doses en Pb appliquées. L'allure de cette diminution est d'une grandeur différente à travers les deux génotypes (Fig.23).

Chez le génotype Sidi Aïch, le lot témoin inscrit une moyenne évaluée à 30.95%. Dans les lots D1 et D2, les moyennes de ces taux sont évaluées dans un ordre respectif à 23.50 et 19.60%, exprimant ainsi, des diminutions de l'ordre de 24.08% et 36.69%.

Chez le génotype Super Agudulce, les taux moyens enregistrés des protéines sont plus importants, en comparaison avec le premier génotype. Ainsi, pour le lot témoin, la moyenne enregistrée est de 38.67%. Pour les traitements D1 et D2, les valeurs moyennes du taux des protéines inscrivent dans un ordre respectif 30.54 et 25.37% exprimant des diminutions par rapport au témoin de l'ordre de 21.03 et 34.41%.

**Tableau n°25 :** Taux des protéines totales en % de la matière sèche de la graine des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Protéine (%)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	30.95 $\pm$ 0.93	-
	1000	23.50 $\pm$ 1.00	-24.08
	2000	19.60 $\pm$ 1.03	-36.69
Sup Aguadulce	0	38.67 $\pm$ 0.48	-
	1000	30.54 $\pm$ 0.27	-21.03
	2000	25.37 $\pm$ 0.45	-34.41



**Figure n°23:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du taux des protéines brutes (%) de V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

#### o Discussion

En présence de forte concentration en plomb le pool protéique peu fortement diminué (Jana and Choudhuri, 1982; Mohan and Hosetti, 1997; Saxena et al., 2003; Mishra et al., 2006; Garcia et al., 2006; Piotrowska et al., 2009).

Les résultats de la présente étude ont montré une diminution du taux des protéines brutes en fonction de la dose de plomb ajoutée (effet très hautement significatif) avec un coefficient de corrélation significatif et négatif ( $r = -0.84^*$  pour l'application 1 et  $r = -0.81^*$  pour la deuxième application). Le génotype Super Aguadulce enregistre des valeurs de

protéines largement supérieures à celles enregistrées par Sidi Aïch due probablement à un critère variétal.

La diminution du taux des protéines est en accord avec les résultats enregistrés par John et al., (2008) sur *Lemna polyrrhiza* L., et Azooz et al., (2011) sur *Hibiscus esculentus*, ces derniers ont attribué cette diminution à une peroxydation lipidique et à la fragmentation des protéines sous l'action des ROS, suite probablement à une sur activation des protéases responsables de la mise à solution des protéines (Sharma et Dubey, 2005). La diminution du taux des protéines au niveau des racines de la fève est rapportée par Belatgi (2005) à une inhibition de l'activité de la nitrogénase.

## 1.6. Teneur en proline

### ○ *Application 1*

L'analyse des résultats (Tab.9) montre que le taux de la proline accumulée est significativement influencé par la contamination avec le plomb ( $p < 0.05$ ). Le facteur génotypique affecte également et d'une manière significative ( $p < 0.05$ ) cette accumulation. L'interaction des deux facteurs d'étude (dose de plomb \* génotype) n'affecte que faiblement les variations de la teneur en cet élément ( $p > 0.05$ ). Ceci indique que les génotypes testés ont manifesté des comportements identiques en réaction à l'application du stress métallique.

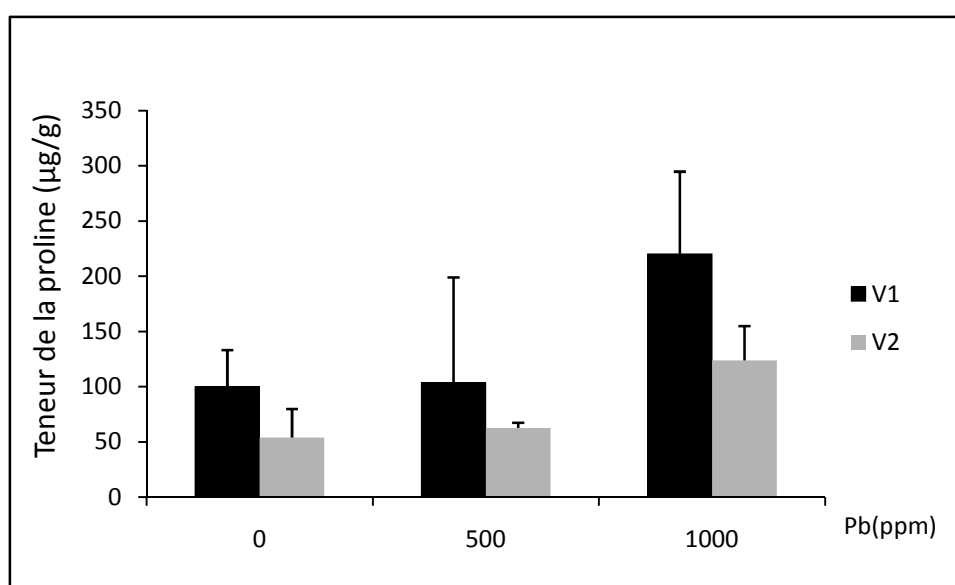
Les résultats moyens (Tab.26) montrent que l'application croissante du Pb provoque une augmentation de la teneur en proline. L'acuité de cette augmentation est d'une grandeur différente à travers les génotypes testés (Fig.24).

Chez le génotype Sidi Aïch, au niveau du traitement témoin, la teneur moyenne en proline s'évalue à 100.12 $\mu$ g/g. Dans les lots D1 et D2, la progression de la teneur atteint respectivement 103.70 et 220.49 $\mu$ g/g exprimant ainsi des évolutions de l'ordre de 3.58% et 120.22%.

Chez le génotype Super Aguadulce, les teneurs en proline sont d'un ordre plus faible, en comparaison avec le premier génotype. Ainsi, dans le lot témoin, cette teneur est de 53.59 $\mu$ g/g. Dans les traitements D1 et D2, ces valeurs sont dans un ordre respectif de 62.72 et 123.83 $\mu$ g/g, inscrivant des progressions respectives de 16.26 et 129.52%.

**Tableau n°26:** Teneur en proline en  $\mu\text{g/g}$  dans les feuilles des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (ppm)	Proline ( $\mu\text{g/g}$ )	Evolution %
Sidi Aïch	0	100.12 $\pm$ 32.95	-
	500	103.70 $\pm$ 95.24	3.58
	1000	220.49 $\pm$ 74.22	120.22
Sup Aguadulce	0	53.95 $\pm$ 25.92	-
	500	62.72 $\pm$ 4.63	16.25
	1000	123.83 $\pm$ 31.08	129.52



**Figure n°24 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la proline  $\mu\text{g/g}$  des deux géotypes V1 (Sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500, 1000ppm).

#### o Application 2.

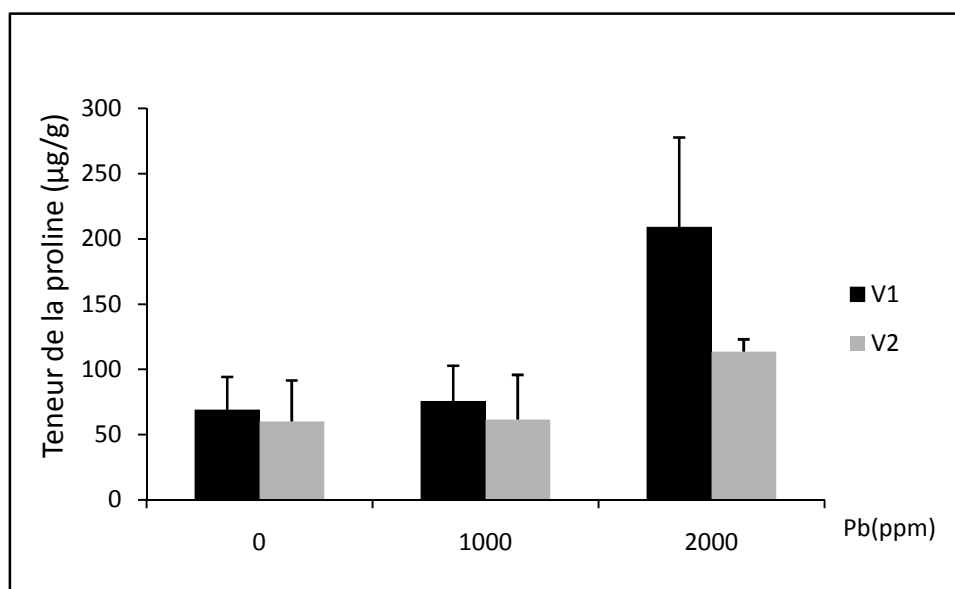
L'application du plomb lors de la deuxième période affecte d'une manière plus marquée la teneur en proline des feuilles. L'analyse des résultats obtenus (Tab.9) démontre un effet très hautement significatif de la dose de Pb sur l'accumulation de la proline ( $p < 0.005$ ). L'effet de la nature des géotypes permet également des variations significatives de la teneur en cet acide aminé ( $p < 0.05$ ). L'interaction entre les deux facteurs d'étude permet une influence significative sur les teneurs en proline ( $p < 0.05$ ), signifiant ainsi l'expression de réactions différentes, des géotypes testés vis-à-vis de la contamination avec le plomb.

Les résultats moyens de la teneur en proline, obtenus au cours de cette deuxième application (Tab.27), indique que le génotype Sidi Aïch, enregistré dans le traitement témoin, une valeur de 86.88  $\mu\text{g/g}$ . Cependant, dans les traitements D1 et D2 ces valeurs s'évaluent respectivement à 75.43 et 208.89  $\mu\text{g/g}$ , représentant ainsi des accroissements respectifs de 9.5%, et 223.23%.

Les teneurs relevées chez le génotype Super Aguadulce s'avèrent plus faibles (Fig.25). Ainsi pour le témoin cette teneur est évaluée à 60 $\mu\text{g/g}$ . Elle atteint des niveaux de 61.6 (D1) et 113.58 $\mu\text{g/g}$  (D2), permettant des élévations de grandeurs évaluées, dans l'ordre de 2.66% et de 89.3%, par rapport à ceux du lot, témoin.

**Tableau n°27** : Teneur en proline en  $\mu\text{g/g}$  dans les feuilles de *Vicia faba* exposé aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Proline ( $\mu\text{g/g}$ )	Evolution %
Sidi Aïch	0	68.89 $\pm$ 25.36	-
	1000	75.43 $\pm$ 27.41	9.50
	2000	208.89 $\pm$ 68.78	203.23
Sup Aguadulce	0	60.00 $\pm$ 31.49	-
	1000	61.60 $\pm$ 34.16	2.67
	2000	113.58 $\pm$ 9.46	89.30



**Figure n°25** : l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la proline ( $\mu\text{g/g}$ ) des deux génotypes V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000, 2000ppm).



---

○ *Discussion*

La proline est parmi les acides aminés les plus présents au niveau des cellules dans les conditions de stress, elle joue un rôle dans la tolérance des plantes à la contamination par les métaux lourds, notamment le plomb (John et *al.*, 2008 ; Pourrut, 2008 ; Shahid, 2010 ; Azooz et *al.*, 2011).

Les résultats relevés dans cette étude, montrent une augmentation relative des teneurs de la proline en fonction de l'accroissement des doses de plomb appliquées dans le substrat. L'accumulation de la proline se montre plus importante lors de la deuxième application ( $r=0.65^*$ ) que pendant la première application ( $r=0.55^*$ ). L'accumulation de la proline a été enregistré en présence de fortes doses de plomb (Qureshi et *al.*, 2007 ; John, et *al.*, 2008 ; Hedaya, 2008 ) appliquées sur des plantes de la fève, ou sur d'autres espèces (Jiang Wang et al., 2010 ; Azooz et *al.*, 2011).

Pour maintenir le statut hydriques, la plante secrète massivement les osmolytes en particulier la proline (Qureshi et al., 2007 ; Azooz et *al.*, 2011). Selon Hedaya (2008) cette dernière semble jouer un rôle vitale dans l'ajustement osmotique, de plus, cet acide aminé est considéré comme un stabilisateur de macromolécules, un chélateur de métaux grâce aux groupement thiol (-SH) et un protecteur de la structure subcellulaire (Azooz et *al.*, 2011). L'accumulation de la proline dans les tissus est peut-être due à une protéolyse (Pourrut, 2008 ; Azooz et *al.*, 2011) induite par la présence d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) résultantes de la présence de plomb (Wong et al., 2008).

## 1.7. Le Poids sec

### 1.7.1. Le poids sec de la partie racinaire

#### ○ Application 1

L'analyse des résultats (Tab.9) montre que la variation du poids sec de la partie racinaire est très hautement influencé par la contamination en plomb ( $p < 0.005$ ). Le facteur génotypique a un effet significatif sur cette variation. Par contre, l'interaction entre les deux facteurs d'étude n'affecte que faiblement ce paramètre, indiquant ainsi que les deux génotypes manifestent une réponse similaire à l'égard de ce stress.

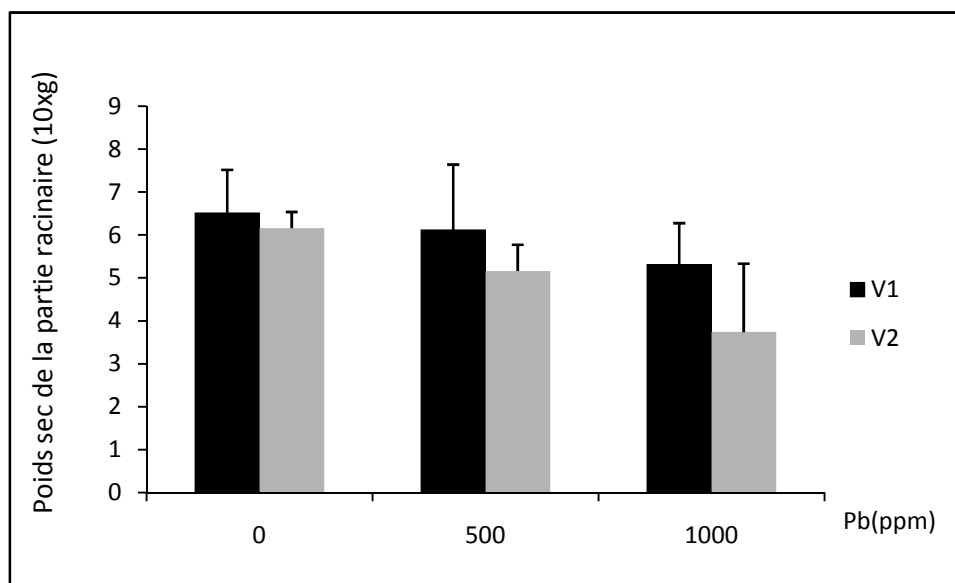
Les résultats moyens (Tab.28) montrent que le poids sec de la partie racinaire diminue suite à l'application des doses croissantes de Pb.

Chez le génotype Sidi Aïch, le témoin enregistre une moyenne qui s'évalue à 6.52 g. Pour les lots D1 et D2, la progression de ces moyennes atteint dans un ordre respectif 6.12 et 5.32g inscrivants des diminutions par rapport au témoin de l'ordre de 6.13 et 18.4%.

Chez le génotype Super Aguadulce, le poids sec de la partie racinaire est plus faible par rapport au premier génotype (Fig.26). Ainsi, on enregistre pour le témoin, une valeur moyenne évaluée à 6.16g. Pour les traitements D1 et D2, ces valeurs sont respectivement de l'ordre de 5.16 et 3.74g exprimant ainsi des régressions de l'ordre de 16.23 et 36.29%.

**Tableau n°28 :** Poids sec de la partie racinaire en (g) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $\bar{X} \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Poids sec de la partie racinaire (g)	Evolution (%)
Sidi Aïch <sup>A</sup>	0	6.52 $\pm$ 1.00	-
	500	6.12 $\pm$ 1.52	-6.13
	1000	5.32 $\pm$ 0.96	-18.40
Sup Aguadulce <sup>B</sup>	0	6.16 $\pm$ 0.38	-
	500	5.16 $\pm$ 0.62	-16.23
	1000	3.74 $\pm$ 1.60	-39.29



**Figure n°26:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du poids sec de la partie racinaire (g) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

#### o Application 2

L'analyse des résultats (Tab.9) montre que les variations du poids sec de la partie racinaire est très significativement influencé par la variation du plomb appliqué ( $p < 0.005$ ). Le facteur génotypique influe également et d'une manière significative sur les variations de ce paramètre ( $p < 0.05$ ). Quant-à l'interaction entre les deux facteurs (dose de Pb \* génotype), elle n'influe que faiblement ( $p > 0.05$ ) sur ce paramètre, indiquant ainsi, que les deux génotypes se comportent d'une manière similaire à ce stress.

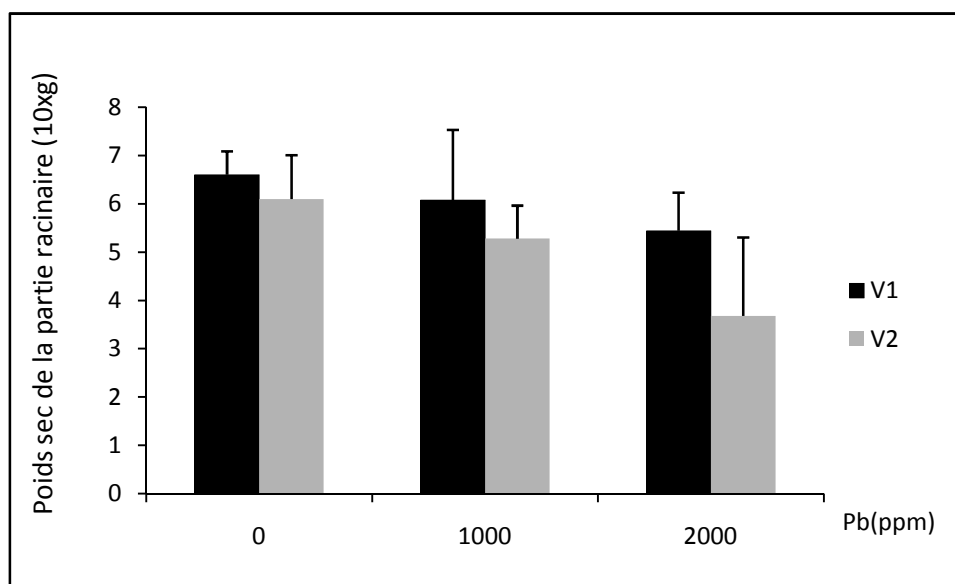
Les résultats moyens (Tab.29) démontrent que l'application des doses croissantes de plomb induit une diminution dans le poids sec de la partie racinaire. L'ampleur de cette diminution est différente à travers les génotypes testés.

Chez le génotype Sidi Aïch, pour le lot témoin, la valeur moyenne du poids sec enregistré est de 6.6g. Pour les traitements D1 et D2, ces moyennes enregistrent respectivement 6.08 et 5.44g, inscriviant des régressions de l'ordre de 7.88% et 17.58%.

Chez le génotype Super Aguadulce, les valeurs moyennes du poids sec de la partie racinaire sont plus faibles en comparaison avec le génotype Sidi Aïche (Fig.27). Ainsi, on signale pour le témoin, que la valeur moyenne enregistrée est de 6.1g. Pour les lots D1 et D2, ces valeurs moyennes enregistrent dans un ordre respectif 5.28 et 3.68g, évaluant ainsi des accroissements de l'ordre de 13.44 et 39.67%.

**Tableau n°29 :** Poids sec de la partie racinaire en (g) des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (ppm)	Poids sec de la partie racinaire (g)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	6.60 $\pm$ 0.48	-
	1000	6.08 $\pm$ 1.45	-7.88
	2000	5.44 $\pm$ 0.79	-17.58
Sup Aguadulce	0	6.10 $\pm$ 0.91	-
	1000	5.28 $\pm$ 0.68	-13.44
	2000	3.68 $\pm$ 1.62	-39.67



**Figure n°27:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du poids sec de la partie racinaire (g) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

### 1.7.2. Le poids sec de la partie aérienne

#### a- Application 1

L'analyse des résultats (Tab.9) montre que la variation du poids sec de la partie aérienne est très influencée par la contamination en plomb ( $p < 0.005$ ). Le facteur génotypique et l'interaction entre les deux facteurs (dose de Pb \* géotype), manifestent également un effet significatif sur la variation de ce paramètre ( $p < 0.05$ ).

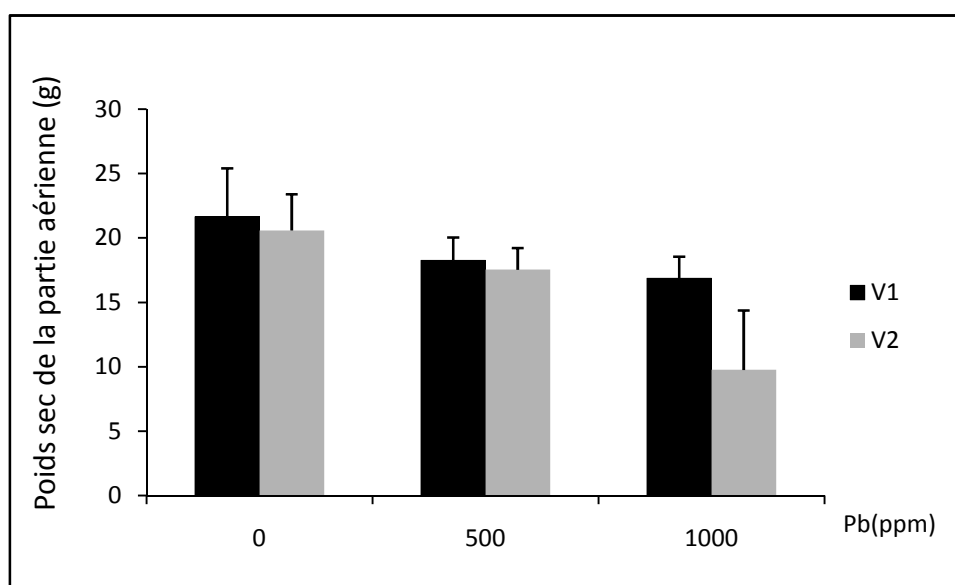
Les résultats moyens (Tab.30) montrent que le poids sec de la partie aérienne diminue en fonction de l'augmentation de la dose de Pb appliquée.

Ainsi chez le génotype Sidi Aïch, la valeur moyenne enregistrée pour le lot témoin est de 21.66g. Pour traitements D1 et D2, ces valeurs enregistrent dans un ordre respectif 18.26g et 16.88g, inscrivant ainsi, des diminutions de l'ordre de 15.7% et 22.07%.

Chez le génotype Super Agudulce, les valeurs moyennes du poids sec de la partie aérienne sont plus faibles en comparaison à celles enregistrées par le premier génotype (Fig.28). Pour le témoin, la valeur moyenne enregistrée est de 20.58g. Pour les lots D1 et D2, les valeurs du poids sec enregistrées sont évaluées respectivement à 17.54 et 9.76g, manifestant des diminutions respectives de l'ordre de 14.77% et de 52.58%.

**Tableau n°30 :** Poids sec de la partie aérienne en (g) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Poids sec de la partie aérienne (g)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	21.66 $\pm$ 37.5 <sup>A</sup>	-
	500	18.26 $\pm$ 17.9 <sup>A</sup>	-15.70
	1000	16.88 $\pm$ 16.8 <sup>A</sup>	-22.07
Sup Agudulce <sup>B</sup>	0	20.58 $\pm$ 28.2 <sup>A</sup>	-
	500	17.54 $\pm$ 16.8 <sup>A</sup>	-14.77
	1000	9.76 $\pm$ 46.2 <sup>B</sup>	-52.58



**Figure n°28:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du poids sec de la partie aérienne (g) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Agudulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

○ **Application 2**

Pour l'application 2, l'analyse des résultats (Tab.9) montre que la variation du poids sec de la partie aérienne est fortement influencée (effet très hautement significatif,  $p < 0.005$ ) par l'ampleur de la pollution en plomb, et aussi par la variation génotypique ( $p < 0.005$ ). L'interaction entre les deux facteurs d'étude (dose de plomb \* génotype) l'affecte d'une manière hautement significative ( $p < 0.01$ ). Cela indique que les deux génotypes ont manifesté des réponses différentes à l'égard de présence de plomb.

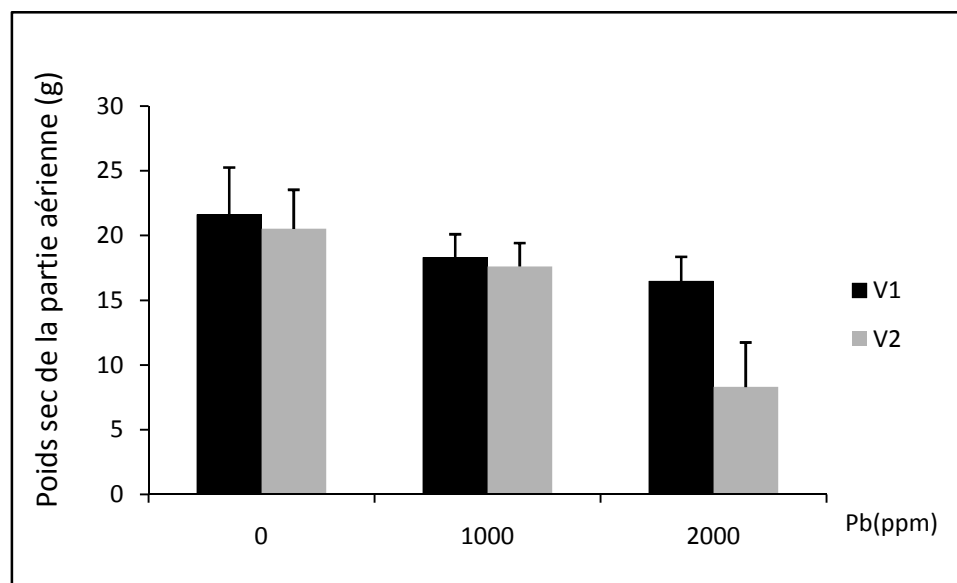
L'exposition des résultats moyens (Tab.31) montre que le poids sec diminue en fonction de l'augmentation des doses de Pb. L'ampleur de cette diminution est différente en fonction des génotypes testés.

Ainsi, pour le génotype Sidi Aïch, on note une moyenne évaluée à 21.62g. Pour les lots D1 et D2, les moyennes du poids sec enregistrées sont respectivement 18.3 et 16.48g, manifestant des régressions par rapport au témoin de l'ordre de 15.36 et 23.77%.

Pour le génotype Super Agudulce, les valeurs du poids sec de la partie aérienne sont plus faibles en comparaison avec le premier génotype (Fig.29). Ainsi, pour le témoin, le poids sec enregistre une moyenne de 20.52g. Pour les traitements D1 et D2, ces valeurs sont évaluées dans un ordre successive à 17.62 et 8.3g, évaluant ainsi des régressions de l'ordre de 14.13% et de 59.55%.

**Tableau n°31 :** Poids sec de la partie aérienne en (g) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $\bar{X} \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Poids sec de la partie aérienne (g)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	21.62 $\pm$ 3.65 <sup>A</sup>	-
	1000	18.30 $\pm$ 1.81 <sup>AB</sup>	-15.36
	2000	16.48 $\pm$ 1.88 <sup>B</sup>	-23.77
Sup Agudulce	0	20.52 $\pm$ 3.03 <sup>AB</sup>	-
	1000	17.62 $\pm$ 1.81 <sup>AB</sup>	-14.13
	2000	8.30 $\pm$ 3.45 <sup>C</sup>	-59.55



**Figure n°29:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du poids sec de la partie aérienne (g) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

#### o Discussion

Le poids sec de la partie racinaire semble être très affecté par l'augmentation de la dose de plomb se dernier facteur influe d'une manière significatif sur la production de la biomasse avec un coefficient de corrélation négatif et significatif ( $r=-0.55^*$  pour l'application une et pour l'application deux). En signale également une production moins importante pour le génotype Super Aguadulce par rapport au génotype Sidi Aïch, ce dernier semble développée un système racinaire plus important.

Le poids sec de la partie aérienne est affecté par la augmentation de la dose de plomb qui influe d'une manière significatif sur la production de la biomasse avec un coefficient de corrélation négatif et significatif ( $r=-0.69^*$  pour l'application une et  $r=-0.72^*$  pour l'application deux). En signale également que le poids sec aérien est corrélé avec la différence génotypique. Le génotype Sidi Aïch enregistre des valeurs importantes par rapport au génotype Super Aguadulce.

Le poids sec est un paramètre indicateur de la production de la biomasse, toutes variation est signe d'un dysfonctionnement physiologique, il semble plus influencé par l'ampleur du stress en présence. Islam et collaborateur (2007 :2008) signale une inhibition du développement significative des plantes de deux écotypes d'*Elsholtzia argyi* exposés à de fortes concentrations en plomb (jusqu'à 200 $\mu$ m), et une inhibition significative du poids

frais et sec de la racine et de tige, ce qui en accord avec nos résultats, ils signalent aussi que la partie racinaire est plus affectée que la partie aérienne.

Les plants contaminés par le plomb présentent un ralentissement de leur développement et une inhibition de la croissance des racines et des parties aériennes (Brunet, 2008). Cela est attribué à la perturbation de nombreux processus physiologiques comme la régulation du statut hydrique et la nutrition minérale (Azooz et al., 2011), la respiration et à la photosynthèse (Pourrut, 2008). En plus, le plomb est impliqué dans l'inhibition de la division cellulaire, ce qui perturbe et affecte le développement (Johnson, 1998 ; Ruley et al., 2006 ; Azooz et al., 2011).



## 2. Effet du plomb sur les paramètres morphologiques

### 2.1. La surface foliaire

L'analyse des résultats (Tab.32) montre que la variation de la surface foliaire est très influencée par la variation de la dose de plomb dans le milieu ( $p < 0.005$ ). Le facteur génotype manifeste un effet non significatif ( $p > 0.05$ ) sur les variations de ce paramètre. L'interaction entre les deux facteurs d'étude (dose de Pb \* génotype) exerce un effet significatif ( $p < 0.05$ ) sur les variations de la surface foliaire. Ce qui indique que les deux génotypes testés extériorisent des réponses différentes à l'égard du stress imposé.

**Tableau n°32** : L'analyse de la variance des paramètres physiologiques des deux génotypes étudiés.

Variables	Application 1			Application 2		
	Dose de Pb (F1)	Génotype (F2)	Interaction (F1xF2)	Dose de Pb (F1)	Génotype (F2)	Interaction (F1xF2)
<b>Paramètres morphologiques</b>						
Surface Foliaire	0.001***	0.919ns	0.042*	/	/	/
Nombre Feuilles	0***	0.006**	0.261ns	0***	0***	0.139ns
Nombre Gousses	0.027*	0.088ns	0.780ns	0.004***	0.010*	0.884ns
Hauteur Tige	0***	0***	0.034*	0***	0***	0.007**
Longueur Racinaire	0.120ns	0***	0.859ns	0.080ns	0***	0.675ns
Volume Racinaire	0.011*	0***	0.569ns	0.003***	0***	0.441ns

ns Non significatif

\* Significatif

\*\* Hautement significatif

\*\*\* Très hautement significatif

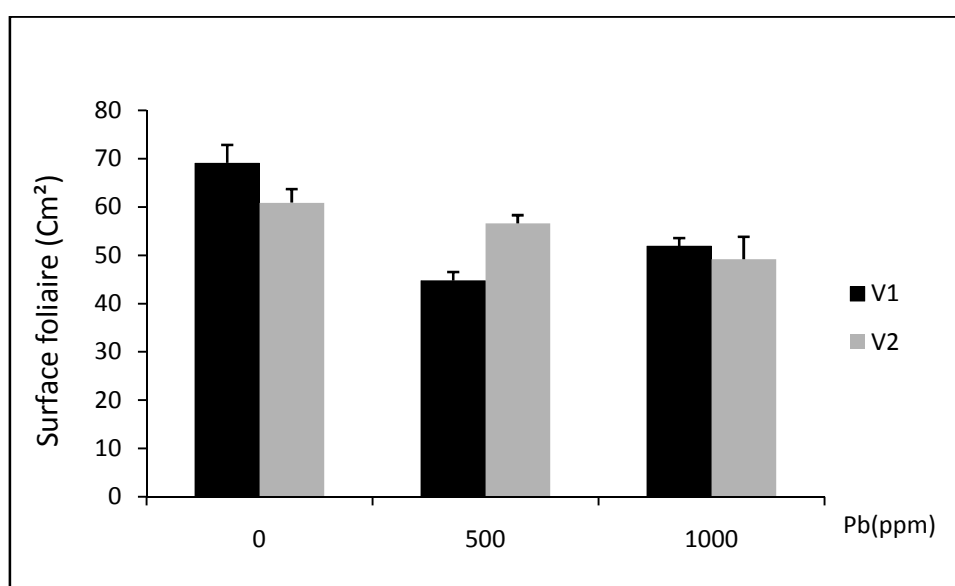
Les résultats moyens (Tab.33) montrent que la surface foliaire exprimée en centimètre, diminue en fonction de l'intensité du stress appliqué. Cette diminution est d'une grandeur différente à travers les deux génotypes expérimentés.

Chez le génotype Sidi Aïch, pour les plants issus du lot témoin, la surface moyenne mesurée est estimée à 69.08Cm<sup>2</sup>. Pour les traitements D1 et D2, ces moyennes enregistrent respectivement 44.72 et 51.88Cm<sup>2</sup>, exprimant des diminutions de l'ordre de 35.26% et 24.90%.

Chez le génotype Super Aguadulce, les valeurs de la surface foliaire sont plus faibles par rapport au premier génotype (Fig.30). Ainsi pour le traitement témoin, la valeur moyenne enregistrée est de 60.87Cm<sup>2</sup>. Pour les traitements D1 et D2, ces valeurs sont évaluées dans un ordre respectif, à 56.59 et 49.19Cm<sup>2</sup>, inscrivant des diminutions respectives de l'ordre de 7.04% et 19.20%.

**Tableau n°33 :** La surface foliaire en Cm<sup>2</sup> des feuilles des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (ppm)	Surface Foliaire (Cm <sup>2</sup> )	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	69.08 $\pm$ 10.60 <sup>A</sup>	-
	500	44.72 $\pm$ 7.04 <sup>C</sup>	-35.26
	1000	51.88 $\pm$ 11.71 <sup>BC</sup>	-24.90
Super Aguadulce	0	60.87 $\pm$ 13.05 <sup>AB</sup>	-
	500	56.59 $\pm$ 18.12 <sup>ABC</sup>	-7.04
	1000	49.19 $\pm$ 13.05 <sup>BC</sup>	-19.20



**Figure n°30:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la surface foliaire (Cm<sup>2</sup>) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

## 2.2. Nombre de feuilles.

### o Application 1:

L'analyse des données obtenus (Tab.32) montre que la variation du nombre de feuilles est très influencé par la pollution en plomb ( $p < 0.01$ ). Le facteur génotypique exerce un effet très hautement significatif ( $p < 0.005$ ). Par contre, l'interaction entre les deux facteurs d'étude n'a qu'un faible effet sur l'expression de cette caractéristique ( $p > 0.05$ ), ceci indique que les deux géotypes manifestent une réponse similaire sous l'effet du plomb.

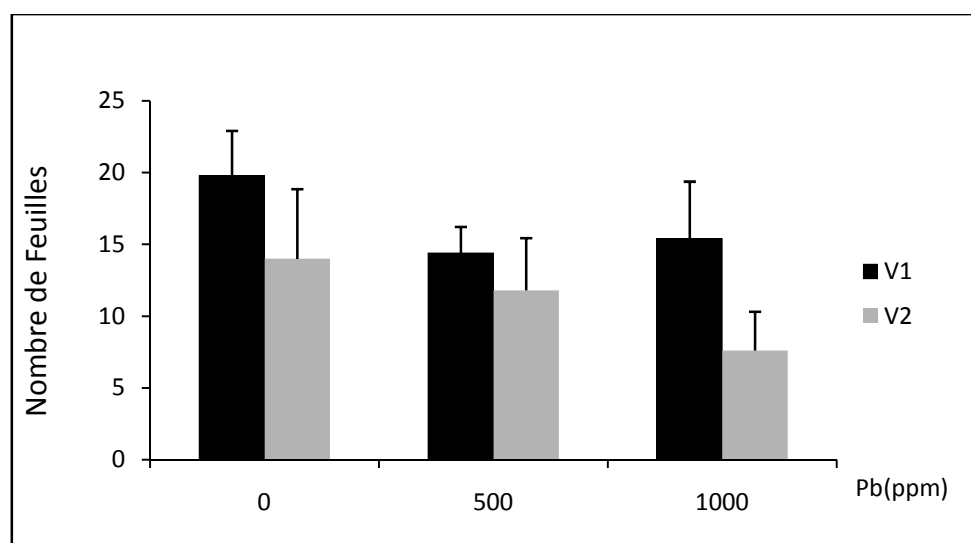
Les résultats moyens (Tab.34) révèlent que le nombre moyen des étages foliaires diminue en fonction de l'augmentation de la dose de Pb appliquée, et que l'ampleur de cette diminution est différente à travers les génotypes testés.

Pour le génotype Sidi Aïch, le lot témoin enregistre un nombre moyen évalué à 19.80. Pour les traitements D1 et D2, le nombre de feuilles enregistrés est évalué respectivement à 14.40 et 15.40, inscrivant une diminution par rapport au témoin de l'ordre de 27.27 et 22.22%.

Chez le génotype Super Aguadulce, le nombre de feuilles est plus faible en comparaison avec le premier génotype (Fig.31). Ainsi, pour le témoin, le nombre moyen enregistré s'évalue à 14 feuilles. Pour les lots D1 et D2, le nombre enregistré est évalué respectivement à 11.80 et 7.6 exprimant des diminutions de l'ordre de 15.71 et 45.71%.

**Tableau n° 34:** Nombre de feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $\bar{X} \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Nombre de feuilles	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	19.80 $\pm$ 3.11	-
	500	14.40 $\pm$ 1.82	27.27
	1000	15.40 $\pm$ 3.98	22.22
Sup Aguadulce	0	14.00 $\pm$ 4.85	-
	500	11.80 $\pm$ 3.63	15.71
	1000	07.60 $\pm$ 2.70	45.71



**Figure n°31:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du nombre de feuilles pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

○ **Application 2:**

L'analyse de la variance (Tab.32) montre que la variation du nombre de feuilles est fortement influencée par la variation des doses de plomb et par le facteur génotypique ( $p < 0.005$ ). Par contre l'interaction entre les deux facteurs d'étude n'exprime que faible effet sur les fluctuations de ce paramètre ( $p > 0.05$ ), indiquant ainsi, une réponse similaire des deux génotypes testés à l'égard de la présence de plomb.

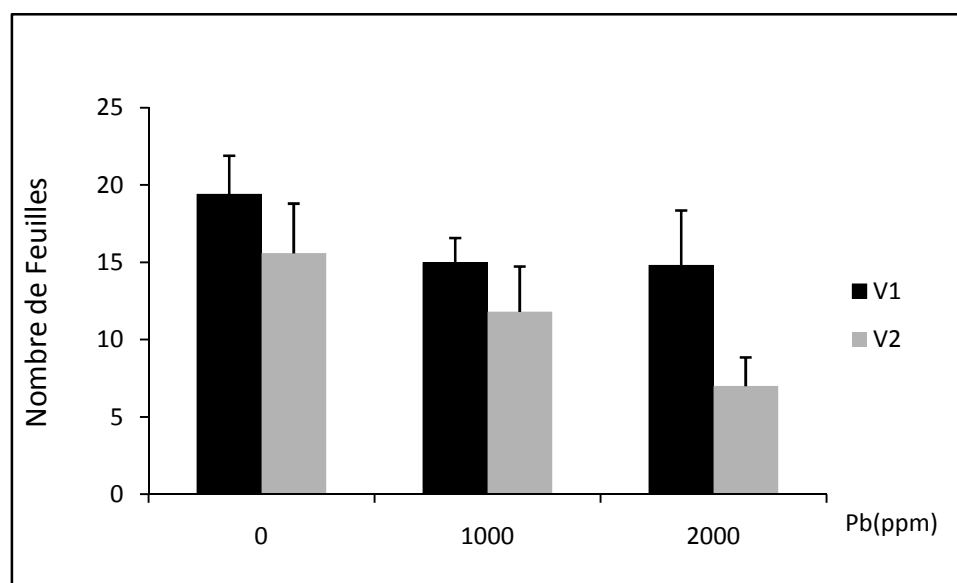
L'exposé des résultats moyens (Tab.35) montre que l'accroissement du degré du stress plombé est accompagné d'une diminution du nombre des étages foliaires. Cette diminution varie grandement entre les deux génotypes.

Chez le génotype Sidi Aïch, pour le témoin, on enregistre un nombre moyen de feuilles évalué à 19.4. Pour les lots D1 et D2, les nombres moyens relevés sont respectivement 15 et 14.8, évaluant des régressions par rapport au témoin de l'ordre de 22.68 et 23.71%.

Chez le génotype Super Agudulce, les valeurs moyennes du nombre de feuille restent faibles en comparaison avec le premier génotype (Fig.32). Ainsi, pour le témoin, on enregistre un nombre moyen de 15.6. Pour les lots D1 D2, les nombres relevés sont dans un ordre respectif 11.8 et 7, inscrivant des diminutions de l'ordre de 24.36 et 55.13%.

**Tableau n°35:** Nombre de feuilles des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $\bar{X} \pm S$ , suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ )).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Nombre de feuilles	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	19.40 $\pm$ 2.51	-
	1000	15.00 $\pm$ 1.58	22.68
	2000	14.80 $\pm$ 3.56	23.71
Sup Aguadulce	0	15.60 $\pm$ 3.21	-
	1000	11.80 $\pm$ 2.95	24.36
	2000	7.00 $\pm$ 1.87	55.13



**Figure n°32 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du nombre de feuilles pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

### 2.3. Nombre de gousses.

#### o *Application 1:*

L'analyse des résultats (Tab.32) montre que la pollution en plomb a peu d'influence sur la variation du nombre de gousses produit par plant ( $p > 0.05$ ). L'analyse montre également que la variation de ce paramètre est très influencé par la variation génotypique ( $p < 0.005$ ). L'interaction entre les deux facteurs d'étude (dose de Pb \* génotype) n'a que peu d'effet sur cette variation. Ce qui indique que les deux génotypes ont une réponse similaire face à ce stress.

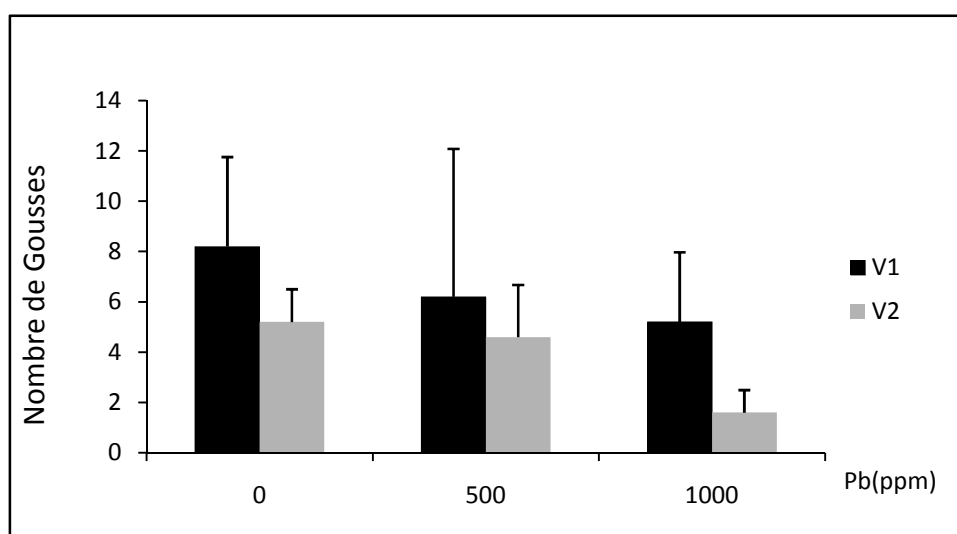
Même si l'effet du plomb n'est pas significatif, les valeurs moyennes enregistrées (Tab.36) montrent que l'application des doses croissantes de plomb implique une diminution du nombre moyenne de gousses par plant. Cette diminution est d'une grandeur différente à travers les deux génotypes testés.

Ainsi, chez le génotype Sidi Aïch, pour le témoin, le nombre de gousses moyen enregistré est de 8.2. Pour les traitements D1 et D2, le nombre moyen enregistré est successivement 6.2 et 5.2, inscrivant des diminutions de l'ordre de 24.39 et 36.59%.

Chez le génotype Super Aguadulce, le nombre moyen de gousses par plant est plus faible que celui enregistré par le premier génotype (Fig.33), pour le lot témoin, le nombre de gousse enregistré est de 5.2. Pour les lots D1 et D2, on enregistre respectivement un nombre moyen évalué à 4.6 et 1.6 exprimant une diminution de l'ordre de 11.54 et 69.23%.

**Tableau n°36:** Nombre de gousses des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $\bar{X} \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (g/Kg de sol)	Nombre de gousses	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	8.20 $\pm$ 3.56	-
	500	6.20 $\pm$ 5.89	-24.39
	1000	5.20 $\pm$ 2.78	-36.59
Sup Aguadulce	0	5.20 $\pm$ 1.30	-
	500	4.60 $\pm$ 2.07	-11.54
	1000	1.60 $\pm$ 0.89	-69.23



**Figure n°33:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du nombre de gousses pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

o **Application 2:**

L'analyse des résultats (Tab.32) montre que l'intensité du stress appliqué a un effet significatif sur la variation du nombre de gousses par plant ( $p < 0.05$ ). La variation génotypique reste un facteur très influent sur ce paramètre ( $p < 0.005$ ). Par contre, l'interaction entre les deux facteurs (dose de Pb \* géotype) n'a que peu d'effet ( $p > 0.05$ ). Ceci indique que les deux géotypes manifestent une réponse similaire à l'égard du présent stress.

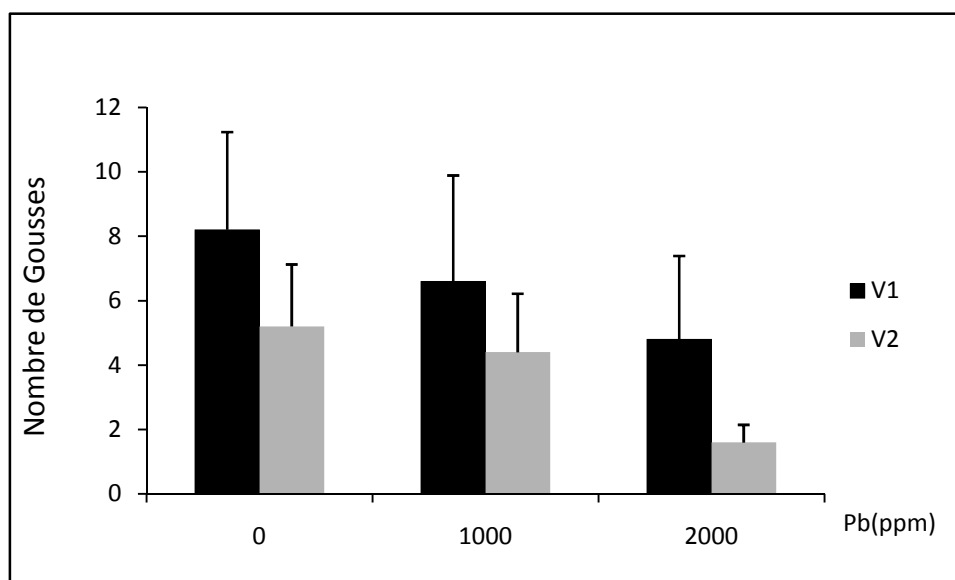
Les résultats moyens (Tab.37) montrent que le nombre de gousses par plant diminue lorsque la dose de Pb augmente. Cette diminution est d'une grandeur différente à travers les deux géotypes testés.

Chez le génotype Sidi Aïch, pour le lot témoin, le nombre moyen de gousses est de 8.2. Pour les lots D1 et D2, le nombre moyen enregistré est successivement de 6.6 et 4.8 évaluant ainsi, des diminutions par rapport au témoin de l'ordre de 19.50% et 41.46%.

Chez le génotype Super Aguadulce, le nombre de gousses par plant reste plus faible en comparaison avec le premier génotype (Fig.34). Ainsi, pour le témoin, le nombre moyen enregistré est de 5.20. Pour les traitements D1 et D2, le nombre moyen enregistré est évalué dans un ordre successivement à 4.40 et 1.60, inscrivant ainsi des diminutions de l'ordre de 15.38 et 69.23%.

**Tableau n°37:** Nombre de gousses des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $X \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (g/Kg de sol)	Nombre de gousses	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	8.20 $\pm$ 3.03	-
	1000	6.60 $\pm$ 3.29	-19.50
	2000	4.80 $\pm$ 2.59	-41.46
Sup Aguadulce	0	5.20 $\pm$ 1.92	-
	1000	4.40 $\pm$ 1.82	-15.38
	2000	1.60 $\pm$ 0.55	-69.23



**Figure n°34:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du nombre de gousses pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

## 2.4. Hauteur de la tige

### ○ Application 1:

L'analyse des résultats (Tab.32) montre que la hauteur de la tige est fortement influencée par l'intensité du stress en plomb, par la variation du facteur génotypique ainsi que par l'interaction entre les deux facteurs ( $p < 0.005$ ).

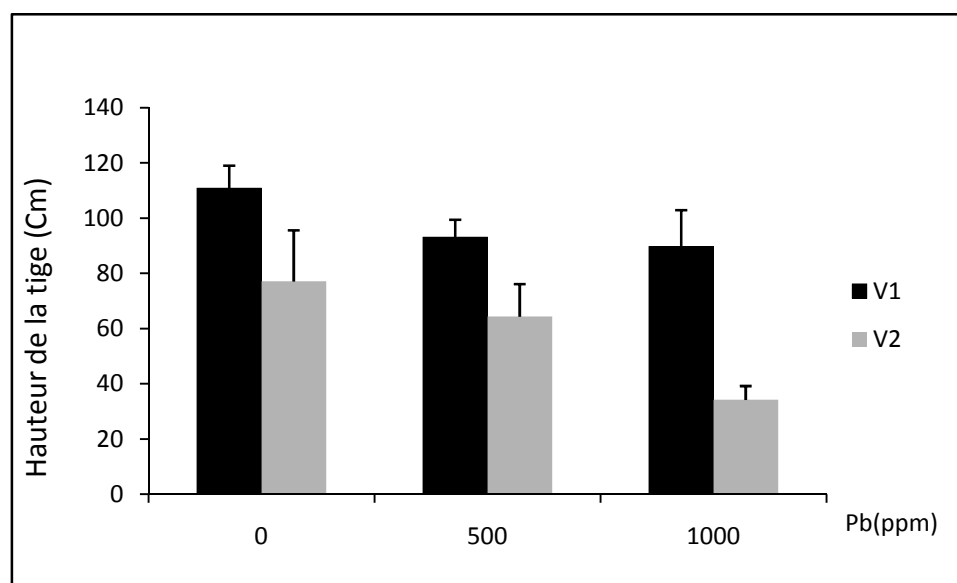
Les résultats moyens (Tab.38) indiquent que la hauteur des tiges diminue en fonction de l'augmentation des doses de Pb appliquées, et que cette diminution est différente à travers les génotypes testés.

Ainsi, chez le génotype Sidi Aïch, pour le lot témoin, on enregistre une hauteur moyenne de 110Cm. Pour les traitements D1 et D2, cette moyenne enregistrée est évaluée respectivement à 93.1 et 89.8Cm, inscrivant des régressions de l'ordre de 16.05 et 19.03%. Chez le génotype Super Aguadulce, les valeurs enregistrées de la hauteur des tiges est plus faibles que celles enregistrées par le premier génotype (Fig.35). Le témoin enregistre hauteur moyenne de 77.1Cm. Pour les lots D1 et D2, cette hauteur enregistre respectivement 64.4 et 34.2Cm, exprimant des diminutions par rapport au témoin de l'ordre de -16.47 et -55.64%.

**Tableau n°38 :** Hauteur de la tige en Cm des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $\bar{X} \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Hauteur de la tige (Cm)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	110.9 $\pm$ 8.17 <sup>A</sup>	-
	500	93.1 $\pm$ 6.37 <sup>B</sup>	-16.05
	1000	89.8 $\pm$ 13.18 <sup>B</sup>	-19.03
Sup Aguadulce	0	77.1 $\pm$ 18.54 <sup>BC</sup>	-
	500	64.4 $\pm$ 11.75 <sup>C</sup>	-16.47
	1000	34.2 $\pm$ 5.08 <sup>D</sup>	-55.64





**Figure n°35:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la hauteur de tige (Cm) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

○ **Application 2:**

L'analyse des résultats (Tab.32) montre que la hauteur de la tige est fortement influence par la présence de plomb, par la variation du facteur génotypique et par l'interaction entre les deux facteurs d'étude ( $p < 0.005$ ).

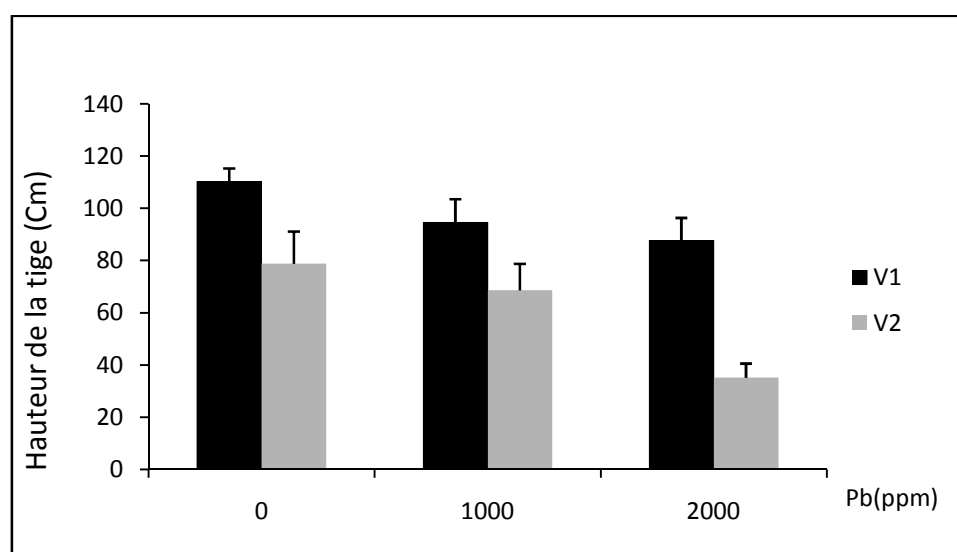
Les résultats moyens (Tab.39) montrent que l'application des doses croissantes du Pb est à la source d'une diminution notable de la hauteur des tiges enregistrée. L'ampleur de cette diminution est différente à travers les deux génotypes testés.

Chez le génotype Sidi Aïch, pour le témoin, la hauteur moyenne est de 110.3Cm. Pour les lots D1 et D2, ces moyennes sont évaluées respectivement à 68.6 et 35.2Cm, inscrivant des accroissements de l'ordre de 14.14 et 20.58%.

Chez le génotype Super Aguadulce, les valeurs moyennes de la hauteur des tiges sont plus faibles que celles enregistrées par le premier génotype (Fig.36). Ainsi, pour le témoin, on signale une moyenne estimée à 78.8Cm. Pour les lots D1 et D2, ces valeurs sont évaluées dans un ordre respectif à 68.6 et 35.2 inscrivant des régressions de 12.94% et de 55.33%.

**Tableau n°39 :** Hauteur de la tige en Cm des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $\bar{X} \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (ppm)	Hauteur de la tige (Cm)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	110.3 $\pm$ 5.07 <sup>A</sup>	-
	1000	94.7 $\pm$ 8.91 <sup>B</sup>	-14.14
	2000	87.6 $\pm$ 8.81 <sup>BC</sup>	-20.58
Sup Aguadulce	0	78.8 $\pm$ 12.43 <sup>CD</sup>	-
	1000	68.6 $\pm$ 10.20 <sup>D</sup>	-12.94
	2000	35.2 $\pm$ 5.40 <sup>E</sup>	-55.33



**Figure n°36:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la hauteur de tige (Cm) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

## 2.5. Longueur racinaire

### o Application 1:

L'analyse des résultats (Tab.32) montre que la présence de plomb exerce un effet très hautement significatif sur les variations de la longueur racinaire ( $p < 0.005$ ). Le facteur génotypique ainsi que l'interaction entre les deux facteurs (dose de plomb \* géotype), exercent un faible effet sur les variations de ce paramètre ( $p > 0.05$ ).

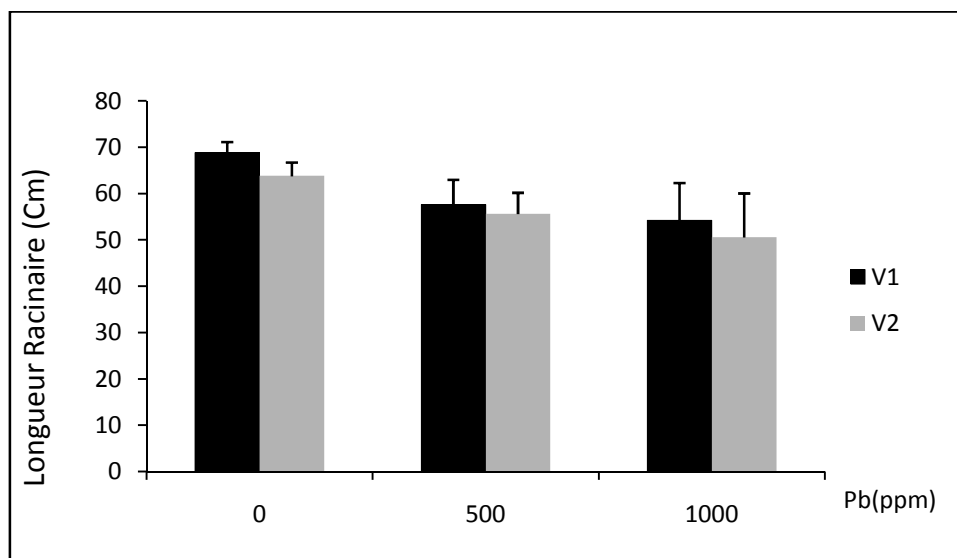
Les résultats moyens (Tab.40) montrent que l'application des doses croissantes de Pb implique une diminution de la longueur de la partie collinaire.

Chez le génotype Sidi Aïch, pour le témoin, la valeur moyenne de la longueur racinaire est de 68.80Cm. Pour les lots D1 et D2, ces valeurs sont évaluées respectivement à 57.6 et 54.2Cm exprimant ainsi des régressions de l'ordre de 16.28 et de 21.22%.

Chez Super Aguadulce, les valeurs de la longueur racinaire sont plus faibles en comparaison avec le premier génotype (Fig.37). Pour le témoin, la longueur moyenne enregistrée est évaluée à 63.80Cm. Pour les traitements D1 et D2, ces valeurs sont respectivement 55.60 et 50.60Cm exprimant des accroissements de l'ordre de 12.85 et 20.69%.

**Tableau n°40:** Longueur racinaire en Cm des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $\bar{X} \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Longueur racinaire (Cm)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	68.80 $\pm$ 2.39	-
	500	57.60 $\pm$ 5.41	-16.28
	1000	54.20 $\pm$ 8.11	-21.22
Sup Aguadulce	0	63.80 $\pm$ 2.95	-
	500	55.60 $\pm$ 4.62	-12.85
	1000	50.60 $\pm$ 9.48	-20.69



**Figure n°37:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la longueur racinaire (Cm) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

○ **Application 2:**

L'analyse des résultats (Tab.32) montre que l'application et la présence de plomb dans le milieu exerce un effet très hautement significatif ( $p < 0.005$ ) sur la variation de la longueur des racines. Le facteur génotypique ainsi que l'interaction entre les deux facteurs (dose de plomb \* génotype), n'influent que faiblement sur ce paramètre ( $p > 0.05$ ).

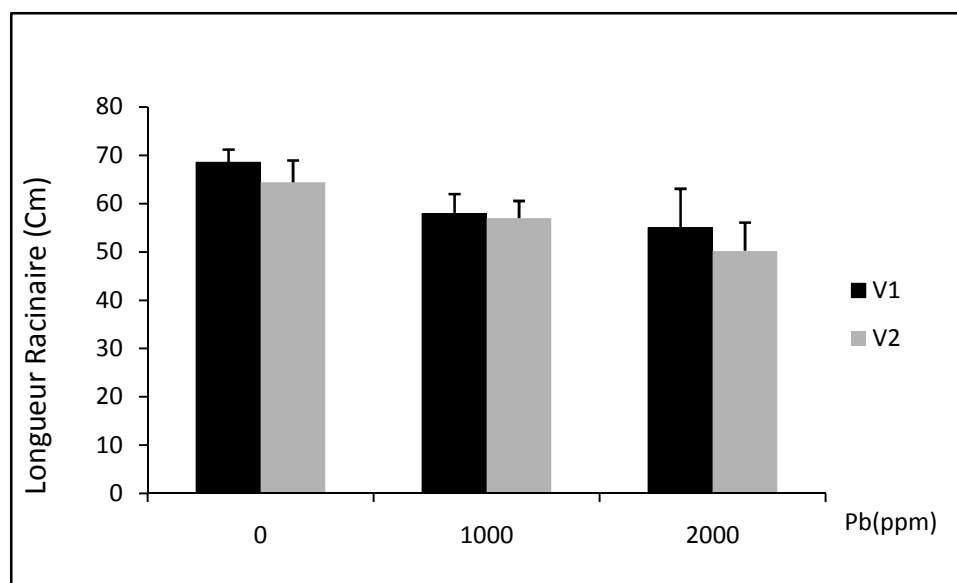
Les résultats moyens (Tab.41) montrent que l'application des doses croissantes de Plomb est responsable d'une diminution de la longueur des racines, et que la grandeur de cette diminution est différente à travers les deux génotypes expérimentés.

Chez le génotype sidi Aïch, on signale pour le témoin, une valeur moyenne de la longueur racinaire de 68.6Cm. Pour les traitements D1 et D2, ces valeurs sont respectivement de 58.00 et 55.00Cm inscriviant des diminutions de l'ordre de 15.45% et de 19.83%.

Chez le génotype Super Aguadulce, les valeurs de la longueur racinaire sont plus faibles par rapport aux valeurs enregistrées par le premier génotype (Fig.38). Ainsi, pour le témoin, on enregistre une longueur évaluée à 64.4Cm. Pour les lots D1 et D2, ces valeurs sont dans un ordre respectif évaluées à 57.00 et 50.20Cm, exprimant des régressions de l'ordre de 11.49 et 22.05%.

**Tableau n°41:** Longueur racinaire en Cm des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $\bar{X} \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Longueur racinaire (Cm)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	68.60 $\pm$ 2.53	-
	1000	58.00 $\pm$ 3.94	-15.45
	2000	55.00 $\pm$ 8.04	-19.83
Sup Aguadulce	0	64.40 $\pm$ 4.51	-
	1000	57.00 $\pm$ 3.54	-11.49
	2000	50.20 $\pm$ 5.85	-22.05



**Figure n°38:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la longueur racinaire (Cm) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

## 2.6. Volume racinaire.

### o *Application 1:*

L'étude des données (Tab.32) montre que la présence du plomb dans le milieu influe fortement sur la variation du volume racinaire ( $p < 0.005$ ). Le facteur génotype présente un effet significatif ( $p < 0.05$ ) sur ce paramètre. L'interaction entre les deux facteurs d'étude n'a aucun effet significatif ( $p > 0.05$ ) sur la variation de ce paramètre, indiquant que les deux génotypes expriment des réponses identiques face au stress appliqué.

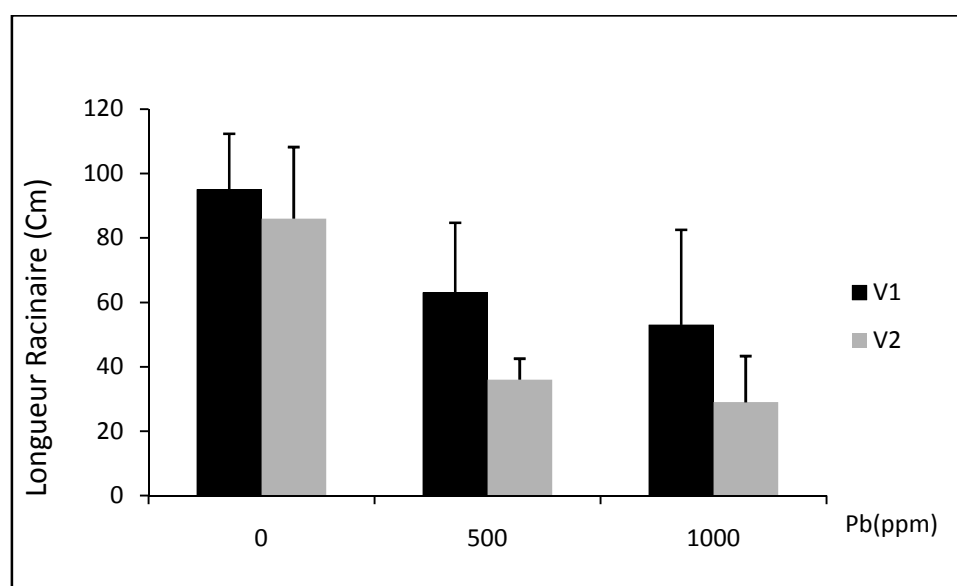
Les résultats moyens présentés dans le tableau n°42, montrent que l'application des doses de Pb croissantes provoque une diminution du volume racinaire. La grandeur de cette diminution est d'une ampleur différente à travers les génotypes testés.

Chez le génotype Sidi Aïch, le témoin enregistre un volume moyen évalué à 95ml. Pour les lots D1 et D2, ces valeurs sont respectivement 63 et 53ml, inscrivant ainsi des diminutions de l'ordre de 33.68 et 44.21%.

Chez le génotype Super Aguadulce, les valeurs moyennes du volume racinaire sont plus faibles en comparaison avec le premier génotype (Fig.39). Ainsi, pour le témoin, on enregistre une valeur moyenne de 86ml. Pour les lots D1 et D2, ces valeurs diminuent respectivement à 36 et 29ml inscrivant des régressions par rapport au témoin de l'ordre de 58.14 et de 66.28%.

**Tableau n°42:** Volume racinaire en ml des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $\bar{X} \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (ppm)	Volume racinaire (ml)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	95 $\pm$ 17.32	-
	500	63 $\pm$ 21.68	-33.68
	1000	53 $\pm$ 29.50	-44.21
Sup Aguadulce	0	86 $\pm$ 22.19	-
	500	36 $\pm$ 6.52	-58.14
	1000	29 $\pm$ 14.32	-66.28



**Figure n°39:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du volume racinaire (ml) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

○ **Application 2:**

L'analyse des données (Tab32) montre que l'évolution du volume racinaire est très influencée par le facteur dose de plomb ainsi que par le facteur génotypique ( $p < 0.005$ ). L'interaction entre les deux facteurs d'étude n'exerce qu'un faible effet ( $p > 0.05$ ) sur les variations de ce paramètre. Cela indique que les deux géotypes ont manifestés des réponses similaires à l'égard du stress imposé par la présence de plomb.

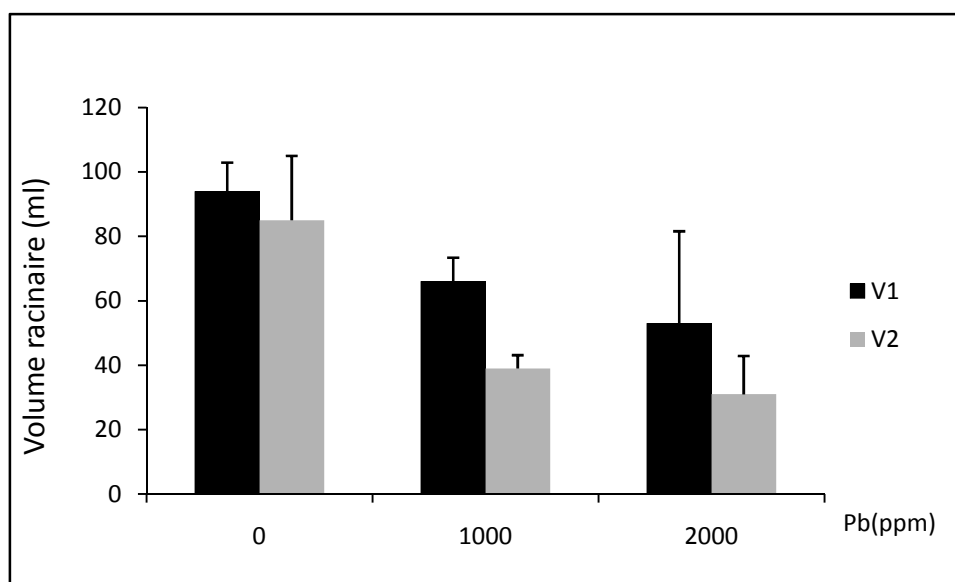
Les résultats moyens (Tab.43) montrent que les valeurs du volume racinaire enregistrées diminuent en fonction de l'augmentation de la dose de Pb. La grandeur de cette diminution est différente à travers les géotypes testés.

Chez le géotype Sidi Aïch, la valeur moyenne du volume racinaire est de 94ml. Pour les traitements D1 et D2, on enregistre une diminution qui atteint respectivement 66 et 53ml exprimant des régressions par rapport au témoin de l'ordre de 29.79 et 43.62%.

Chez le géotype Super Aguadulce, les valeurs du volume racinaire sont plus faibles que celles enregistrées pour le premier géotype (Fig.40). Ainsi pour le témoin, on enregistre une moyenne qui s'évalue à 85ml. Pour les lots D1 et D2, ces valeurs diminuent pour atteindre respectivement 39 et 31ml, exprimant ainsi des régressions de l'ordre de 54.12% et de 63.53%.

**Tableau n°43:** Volume racinaire en ml des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type ( $\bar{X} \pm S$ ), suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (ppm)	Volume racinaire (ml)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	94 $\pm$ 8.94	-
	1000	66 $\pm$ 7.42	-29.79
	2000	53 $\pm$ 28.64	-43.62
Sup Aguadulce	0	85 $\pm$ 20.00	-
	1000	39 $\pm$ 4.18	-54.12
	2000	31 $\pm$ 11.94	-63.53



**Figure n°40:** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du volume racinaire (ml) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

○ *Discussion*

L'ensemble des paramètres morphologiques mesurés sont affecté par la variation des facteurs retenus dans cette étude. On remarque une réduction de la surface foliaire en fonction de la dose de plomb ajoutée (application 1) avec un coefficient de corrélation significatif et négatif ( $r=-0.44^*$ ). Sur la partie aérienne, on a enregistré un coefficient de corrélation significatif et négatif pour le nombre de feuilles ( $r=-0.46^*$ ), pour le nombre de gousse par plant ( $r=-0.39^*$ ) et pour la hauteur de la tige ( $r=-0.49^*$ ), indiquant une influence négative de l'application des différentes doses du plomb sur ces paramètres. Concernant la partie racinaire, un coefficient négatif est enregistré entre la longueur racinaire ( $r=-0.69^*$ ) et le volume racinaire ( $r=-0.67^*$ ) d'une part et l'accroissement de la dose de plomb appliqué d'autre part.

Pour l'application deux, on a enregistré également une régression significatif par rapport à la variation de la dose de plomb ajoutée. Pour la partie aérienne, on a signalé un coefficient de régression négatif et significatif pour le nombre de feuille ( $r = -0.60^*$ ), pour le nombre de gousse par plant ( $r=-0.49^*$ ) et pour la hauteur de la tige ( $r=-0.54^*$ ). Sur la partie racinaire, on a signalé également pour la longueur racinaire un coefficient de corrélation négatif ( $r = -0.75^*$ ) et pour le volume racinaire ( $r=-0.72^*$ ). Ces relations démontrent que l'application du plomb réduit nettement la morphogénèse des deux parties de la plante, caulinaire et racinaire.

Dans notre expérimentation on a remarqué une nette diminution de la production de la biomasse signe visible de la toxicité du plomb en particulier. L'exposition des plantes des deux génotypes de *Vicia* aux différents traitements en plomb a causé des diminutions notables des paramètres biométriques, avec une absence de symptômes de toxicité (nécrose) même avec une concentration de 2000 ppm.

Le plomb est l'un des métaux lourds qui cause de multiples effets sur le développement et la morphologie des plantes (Bhushan et Gupta, 2008 ; Islam et *al.*, 2008 ; Shafiq et *al.*, 2008 ; Aydinalp et Marinova, 2009 ; Farooqi et *al.*, 2009 ; Heidari et Sarani, 2011), inhibe la photosynthèse et cause l'inhibition de l'activité enzymatique et déstabilise la nutrition minérale (Sharma et Dubey, 2005). Islam et *al.*, (2008) ont signalé une réduction du poids frais jusqu'à plus de 50%, et jusqu'à 10% de réduction de la hauteur de la tige, et plus 15% de la surface foliaire par rapport au témoin, avec une inhibition significative du développement du végétal. Le poids frais de la partie racinaire semble être plus sensible que la partie aérienne à cause de la présence de plomb dans le milieu (Islam



et *al.*, 2008). En accord avec notre expérimentation, Lei et *al.*, (2006) ont signalé une inhibition significative de la longueur racinaire en fonction de la dose de plomb appliqué sur trois cultures (*Brassica pekimensis*, *Glycine max* et *Triticum aestivum*).

L'augmentation de la surface foliaire à la dose 1000 ppm est due peut-être à la stimulation de la plante par le plomb pour compenser la diminution de l'activité de la photosynthèse (Islam et *al.*, 2008).

Les études menées sur la toxicité du plomb suggèrent que le plomb fixé sur les acides nucléiques cause l'agrégation et la condensation de la chromatine et stabilisant l'équilibre du double brin de l'ADN induisant par la suite l'inhibition du processus de la réplication, transcription et inévitablement celui de la division cellulaire et par conséquent le développement du végétal (Johnson, 1998 ; Ruley et *al.*, 2006).

### 3. Effet du plomb sur l'anatomie de la tige.

L'étude structurale de la tige, se représente dans ce travail par un dénombrement des faisceaux cribro-vasculaires, l'écart entre ces derniers, le diamètre des vaisseaux ligneux des éléments conducteurs du xylème et l'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques.

#### 3.1. Le nombre des faisceaux cribro-vasculaires.

○ *Application 1:*

L'analyse des résultats (Tab.44) montre que le nombre des faisceaux cribro-vasculaires ne varie que faiblement sous l'influence de l'application du plomb, à différentes doses ( $p > 0.05$ ). Le facteur génotypique et l'interaction entre les deux facteurs manifestent également un effet non significatif ( $p > 0.05$ ).

**Tableau n°44** : L'analyse de la variance du nombre des faisceaux cribro-vasculaires

<i>Variables</i>	Application 1		Application 2	
	Test F	Probabilité ( <i>p</i> )	Test F	Probabilité ( <i>p</i> )
Dose de Pb (F1)	0,842	0,479ns	0,103	0,903ns
Génotype (F2)	0,474	0,522ns	0,862	0,392ns
Interaction (F1*F2)	1,895	0,230ns	0,241	0,794ns

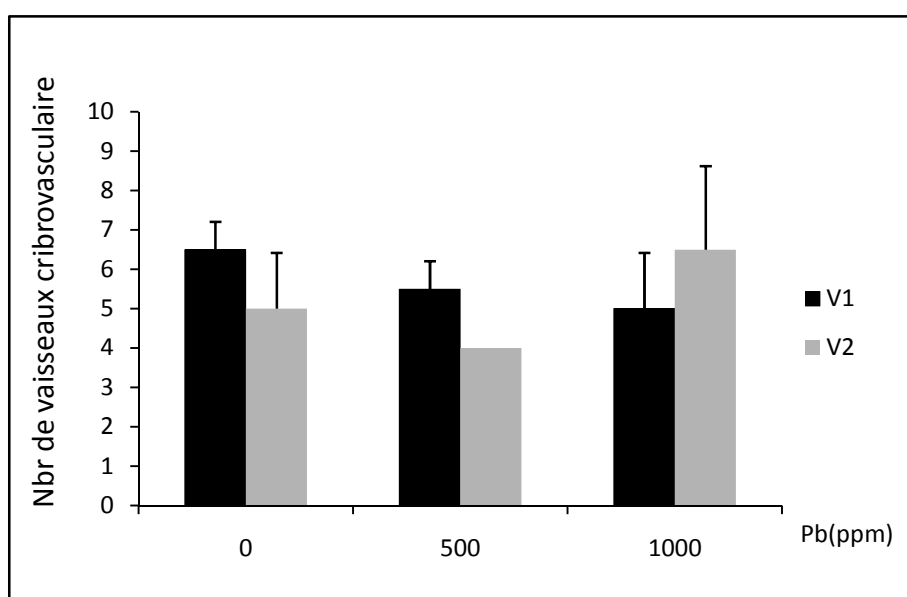
ns : Non significatif

Les résultats moyens (Tab.45) indiquent que chez Sidi Aïch, la réduction du nombre des faisceaux, relevé dans les lots D1 et D2 s'évalue respectivement à 15.38% et 23.08% par rapport au témoin qui enregistre un nombre moyen de 6.5.

Chez le génotype Super Aguadulce, ces tendances se prononcent différentes à celles signalées précédemment. Ainsi, une réduction évaluée à 15.38%, accompagne l'application de 500ppm. Dans le lot conduit à 1000ppm, on enregistre, à l'opposé, un accroissement du nombre de l'ordre de 30% par rapport au témoin qui enregistre un nombre de 5.00.

**Tableau n°45** : Nombre des faisceaux cribro-vasculaires des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (ppm)	Nombre des faisceaux cribro-vasculaires	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	$6.5 \pm 0.71$	-
	500	$5.5 \pm 0.71$	-15.38
	1000	$5 \pm 1.41$	-23.08
Sup Aguadulce	0	$5 \pm 1.41$	-
	1000	$4 \pm 00$	-20
	2000	$6.5 \pm 2.121$	30



**Figure n°41** : l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du nombre des faisceaux cribro-vasculaire pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

○ **Application 2:**

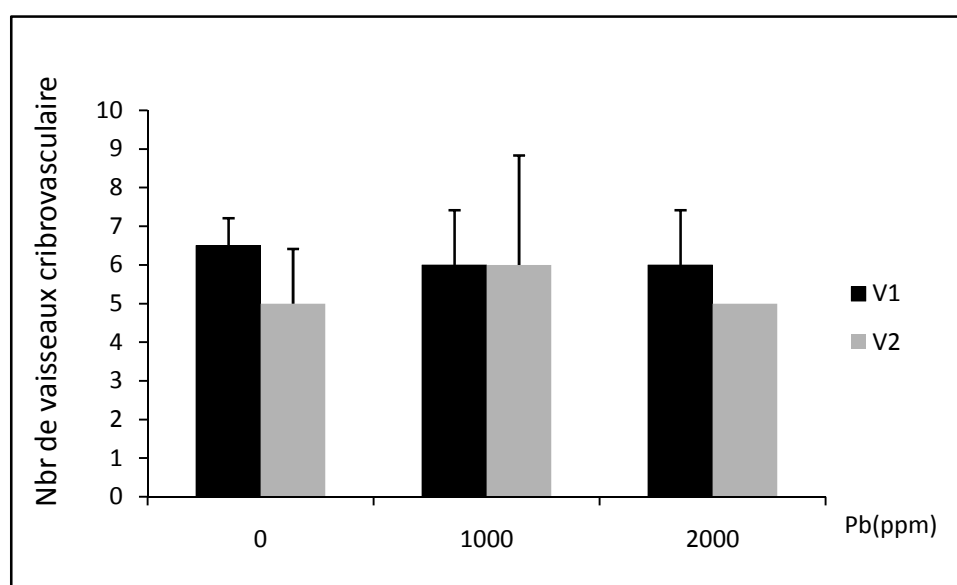
L'analyse des résultats (Tab.44) montre que l'élaboration de ce paramètre, n'est que faiblement influencée par les différents facteurs d'étude. L'application du plomb, la nature des géotypes testés et leur interaction, ne permettent que de faibles variations des nombres relevés ( $p > 0.05$ ).

Chez Sidi Aïch, les données enregistrées (Tab.46) montrent une diminution en fonction de la dose en Pb apportée. Ainsi, les traitements D1 et D2, inscrivent chacun 6.00 faisceaux, évaluant une diminution de l'ordre de 7.69% par rapport au témoin.

Chez le géotype Super Aguadulce, on signale une augmentation pour le traitement D1 de l'ordre de 20%. Le traitement témoin et D2 inscrivent chacun 5.00 faisceaux.

**Tableau n°46 :** Nombre des faisceaux cribro-vasculaires des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (ppm)	Nombre des faisceaux cribro-vasculaires	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	6.5 $\pm$ 0.71	-
	1000	6 $\pm$ 1.41	-7.69
	2000	6 $\pm$ 1.41	-7.69
Sup Aguadulce	0	5 $\pm$ 1.41	-
	1000	6 $\pm$ 2.83	20
	2000	5 $\pm$ 00	00



**Figure n°42 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du nombre des faisceaux cribro-vasculaire pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

### 3.2. Distance entre les faisceaux cribro-vasculaires.

#### o Application 1:

L'analyse des résultats (Tab.47) montre que la distance entre les faisceaux cribro-vasculaires est influencée par la pollution en plomb. Ainsi, l'application des différentes doses de Pb exerce un effet très significatif ( $p < 0.01$ ) sur ce paramètre. Le facteur génotypique a également un effet très hautement significatif ( $p < 0.005$ ) sur les variations d'expression de ce paramètre. L'interaction entre les facteurs d'étude (dose de Pb\*géotype) n'exerce aucun effet significatif ( $p > 0.05$ ) sur l'élaboration de cette caractéristique.

**Tableau n°47** : L'analyse de la variance de la distance entre les faisceaux cribro-vasculaires

<i>Variables</i>	Application 1		Application 2	
	Test F	Probabilité ( <i>p</i> )	Test F	Probabilité ( <i>p</i> )
Dose de Pb (F1)	6,36	0,0051**	0,83	0,4514ns
Génotype (F2)	12,91	0,0013***	9,56	0,0043***
Interaction (F1*F2)	1,84	0,1745ns	0,99	0,3864ns

ns : Non significatif

\*\* : Hautement significatif

\*\*\* : Très hautement significatif

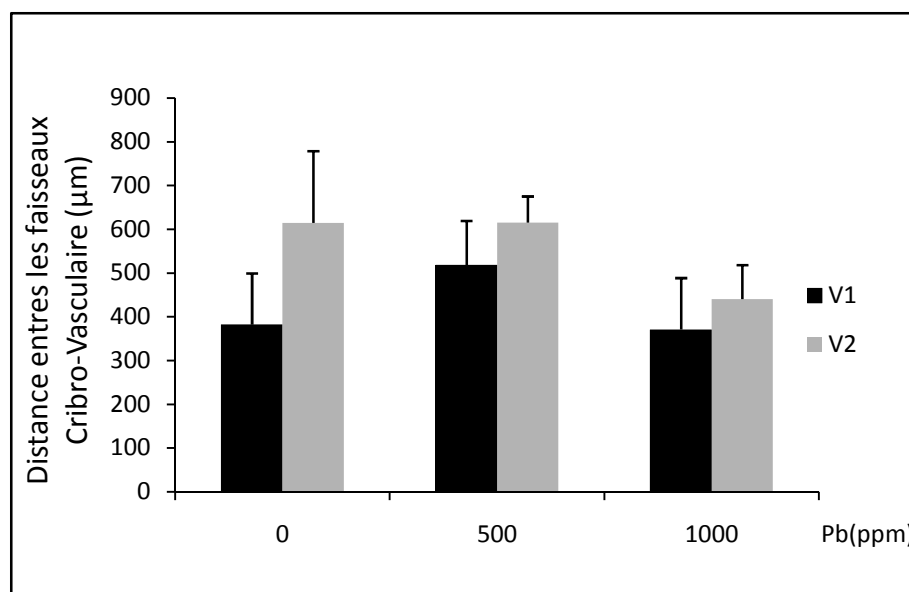
Les résultats moyens (Tab.48) montrent une nette variation des distances mesurées entre les faisceaux cribro-vasculaires pour les deux génotypes étudiés.

Chez le génotype Sidi Aïch, pour le témoin on enregistre une moyenne mesurée de l'ordre de 382.03µm. Le traitement D1 enregistre une évolution par rapport au témoin de l'ordre de 35.60%. Et le traitement D2 enregistre une diminution de la distance qui atteint 370.50µm inscrivant une régression de l'ordre de 3.02%.

Chez le génotype Super Agudulce, on signale que les valeurs moyennes de la distance entre les faisceaux cribro-vasculaires sont nettement plus importantes en comparaison avec les valeurs enregistrées pour Sidi Aïch (Fig.43). Pour le témoin, la moyenne enregistrée est de 614.34µm. Pour le traitement D1, la moyenne enregistrée inscrit une légère augmentation de 615.06µm inscrivant une progression par rapport au témoin de 0.12%. Le traitement D2 enregistre une diminution de 440.34µm avec une régression de l'ordre de 28.32%.

**Tableau n°48** : Distance entre les faisceaux cribro-vasculaires (µm) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Distance entre les faisceaux cribro-vasculaires (µm)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	382.03 ± 116.87	-
	500	518.02 ± 100.76	35.60
	1000	370.50 ± 117.54	-3.02
Sup Agudulce	0	614.34 ± 164.05	
	500	615.06 ± 59.66	0.12
	1000	440.34 ± 77.36	-28.32



**Figure n°43 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la distance entre les faisceaux cribro-vasculaire ( $\mu\text{m}$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

o **Application 2:**

L'analyse de la variance (Tab.47) montre pour la seconde application, que la distance entre les faisceaux cribro-vasculaires n'est pas très affectée par l'ampleur de la pollution en plomb. Ainsi, le facteur dose de plomb n'exerce aucun effet significatif ( $p > 0.05$ ) sur la variation de ce paramètre. A l'opposé, le facteur génotypique influe d'une manière très hautement significative ( $p < 0.005$ ) sur les variations de ce paramètre. L'interaction entre les deux facteurs d'étude a un effet non significatif ( $p > 0.05$ ).

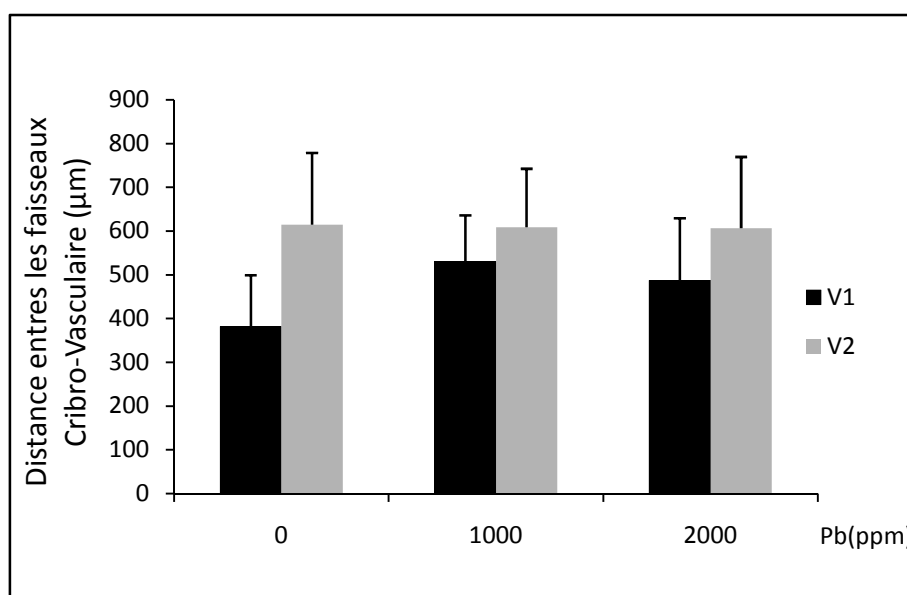
Les résultats moyens (Tab.49) montrent une différence très contrastée entre les deux génotypes pour les valeurs de la distance entre les faisceaux cribro-vasculaires enregistrées. Les valeurs enregistrées pour Super Aguadulce restent toujours plus importantes en comparaison avec Sidi Aïch (Fig.44).

Chez le génotype Sidi Aïch, le témoin enregistre une valeur moyenne de  $382.03\mu\text{m}$ . les traitements D1 et D2 inscrivent des augmentations qui atteignent respectivement,  $530.39$  et  $487.25\mu\text{m}$  évaluant des progressions de l'ordre de  $38.83\%$  et  $27.54\%$ .

Chez le génotype Super Aguadulce, le témoin enregistre une valeur moyenne de la distance entre les faisceaux cribro-vasculaire de  $614.34\mu\text{m}$ . Les lots D1 et D2 inscrivent chacun une légère diminution qui atteint dans un ordre respective,  $608.64\mu\text{m}$  et  $606.66\mu\text{m}$  inscrivant ainsi des régressions par rapport au témoin de l'ordre de  $0.93\%$  et  $1.25\%$ .

**Tableau n°49:** Distance entre les faisceaux cribro-vasculaires ( $\mu\text{m}$ ) des deux géotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Géotype	Dose de Pb (ppm)	Distance entre les faisceaux cribro-vasculaires ( $\mu\text{m}$ )	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	382.03 $\pm$ 116.87	-
	1000	530.39 $\pm$ 105.27	38.83
	2000	487.25 $\pm$ 141.92	27.54
Sup Aguadulce	0	614.34 $\pm$ 164.05	-
	1000	608.64 $\pm$ 133.59	-0.93
	2000	606.66 $\pm$ 162.50	-1.25



**Figure n°44 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de la distance entre les faisceaux cribro-vasculaire ( $\mu\text{m}$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

### 3.3. Diamètre du métaxylème

#### o Application 1:

L'analyse des résultats (Tab.50) montre que le diamètre du métaxylème est influencé par la présence de plomb dans le milieu. Ainsi, le facteur dose de Pb présente un effet significatif ( $p < 0.05$ ) sur l'évolution et la variation de ce paramètre. Le facteur génotypique exerce également, un effet très hautement significatif ( $p < 0.005$ ) sur le diamètre du métaxylème. L'interaction entre les facteurs d'étude (dose de Pb \* génotype) a

un effet significatif ( $p < 0.05$ ), indiquant ainsi, des réactions différentes des génotypes testés à l'égard de l'application du plomb.

**Tableau n°50** : L'analyse de la variance du diamètre du méta-xylème

Variables	Application 1		Application 2	
	Test F	Probabilité ( $p$ )	Test F	Probabilité ( $p$ )
Dose de Pb (F1)	3.70	0.036*	1.58	0.222ns
Génotype (F2)	26.95	0.000***	2.46	0.123ns
Interaction (F1*F2)	3.88	0.031*	0.12	0.887ns

ns : Non significatif

\* : Significatif

\*\*\* : Très hautement significatif

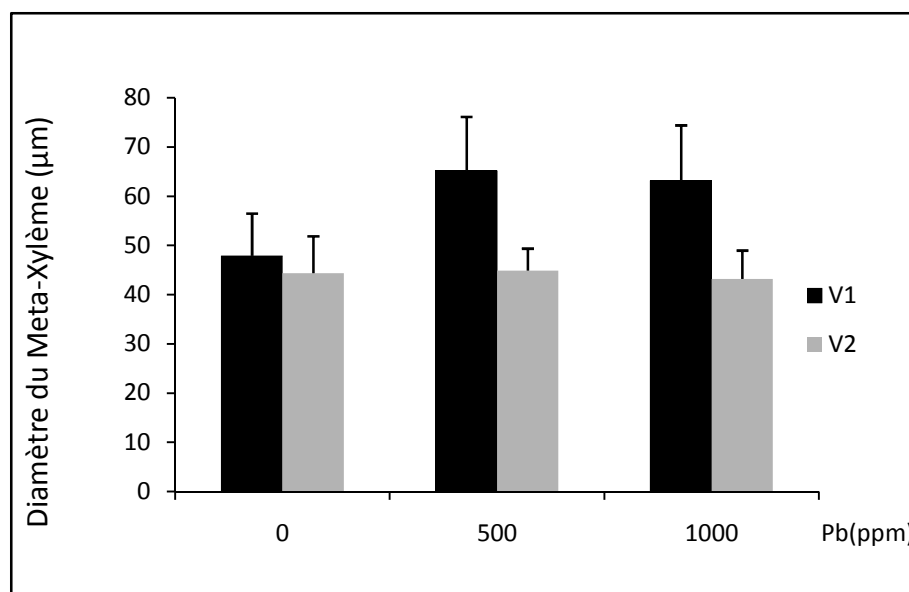
Les résultats moyens (Tab.51) montrent que chez le génotype Sidi Aïch, les valeurs moyennes au niveau du traitement témoin s'évaluent à 47.90 $\mu$ m. Chez le même génotype, et dans les lots D1 et D2, ces valeurs sont de l'ordre de 65.20 et 63.16 $\mu$ m, enregistrant par conséquent des progressions respectives de 36.10% et 31.86%.

Chez le génotype Super Agudulce, les valeurs enregistrées s'avèrent plus faibles que celles relevées chez le premier génotype (Fig.45). Elles présentent également des tendances plus variables que celles constatées précédemment. Ainsi, pour le témoin, on enregistre un diamètre moyen de 44.37 $\mu$ m. Dans le traitement D1, le diamètre est de l'ordre 44.87 $\mu$ m présentant un accroissement de 1.11%. Pour le traitement D2, le diamètre est plus faible, avec une donnée moyenne de 43.17 $\mu$ m enregistrant ainsi une régression estimée à 2.72% par rapport au témoin.

**Tableau n°51** : Diamètre du méta-xylème ( $\mu$ m) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Diamètre du méta-xylème ( $\mu$ m)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	47.90 $\pm$ 8.55	-
	500	65.20 $\pm$ 10.92	36.10
	1000	63.16 $\pm$ 11.24	31.86
Sup Agudulce	0	44.37 $\pm$ 7.49	-
	500	44.87 $\pm$ 4.47	1.11
	1000	43.17 $\pm$ 5.79	-2.72





**Figure n°45 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du diamètre du méta-xylème ( $\mu\text{m}$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

o **Application 2:**

Au cours de cette phase d'application du stress, l'analyse des résultats obtenus des mesures du diamètre des éléments conducteurs du xylème (Tab.50) montre que l'élaboration de cette caractéristique n'est que faiblement influencée par les facteurs d'étude, l'application du plomb ( $p > 0.05$ ), la nature du génotype ( $p > 0.05$ ) ainsi que de leur interaction ( $p > 0.05$ ).

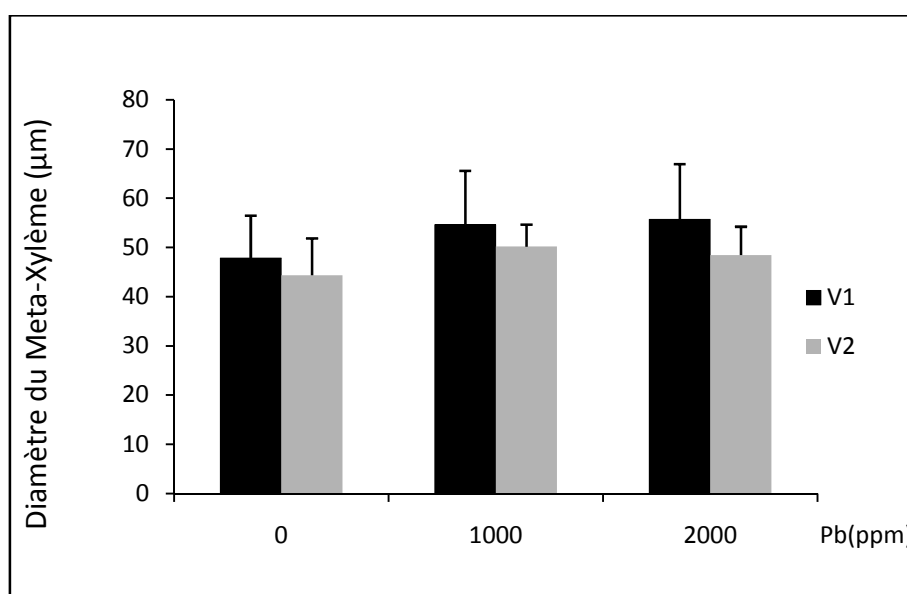
Les résultats moyens (Tab.52), inscrivent, généralement une tendance à l'accroissement des valeurs du diamètre des vaisseaux ligneux, accompagnant l'application des différentes concentrations du plomb.

Ainsi, chez le génotype Sidi Aïch, pour le lot témoin, on enregistre une valeur moyenne de  $47.9\mu\text{m}$ . Pour les lots D1 et D2, les valeurs relevées sont respectivement de l'ordre de  $54.64$  et  $55.71\mu\text{m}$ , évaluant ainsi des progressions de l'ordre de  $14.07\%$  et  $16.30\%$ .

Chez le génotype Super Aguadulce, les valeurs moyennes du diamètre enregistrées sont plus faibles que celles enregistrées par le premier génotype (Fig.46). Pour le témoin, on enregistre une valeur moyenne de  $44.37\mu\text{m}$ . Pour les traitements D1 et D2, ces données sont estimées dans l'ordre, à  $50.18$  et  $48.44\mu\text{m}$  évaluant des progressions par rapport au témoin de l'ordre de  $13.09\%$  et  $9.16\%$ .

**Tableau n°52 :** Diamètre du méta-xylème ( $\mu\text{m}$ ) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Diamètre du méta-xylème ( $\mu\text{m}$ )	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	47.90 $\pm$ 8.55	-
	1000	54.64 $\pm$ 9.28	14.07
	2000	55.71 $\pm$ 14.96	16.30
Sup Aguadulce	0	44.37 $\pm$ 7.49	-
	1000	50.18 $\pm$ 4.36	13.09
	2000	48.44 $\pm$ 10.47	9.16



**Figure n°46 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) du diamètre du méta-xylème ( $\mu\text{m}$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

### 3.4. Epaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques.

#### o Application 1:

L'étude des résultats obtenus (Tab.53) démontre que l'élaboration de l'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques n'est que faiblement influencée par, l'application du plomb ( $p > 0.05$ ), la nature de la variabilité conduite ( $p > 0.05$ ) ainsi que par leur interaction ( $p > 0.05$ ).

**Tableau n°53** : L'analyse de l'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques

<i>Variables</i>	Application 1		Application 2	
	Test F	Probabilité ( <i>p</i> )	Test F	Probabilité ( <i>p</i> )
Dose de Pb (F1)	0,26	0,778ns	10,76	0,002***
Génotype (F2)	1,97	0,183ns	1,91	0,189ns
Interaction (F1*F2)	2,65	0,110ns	4,71	0,031*

ns : Non significatif

\* : Significatif

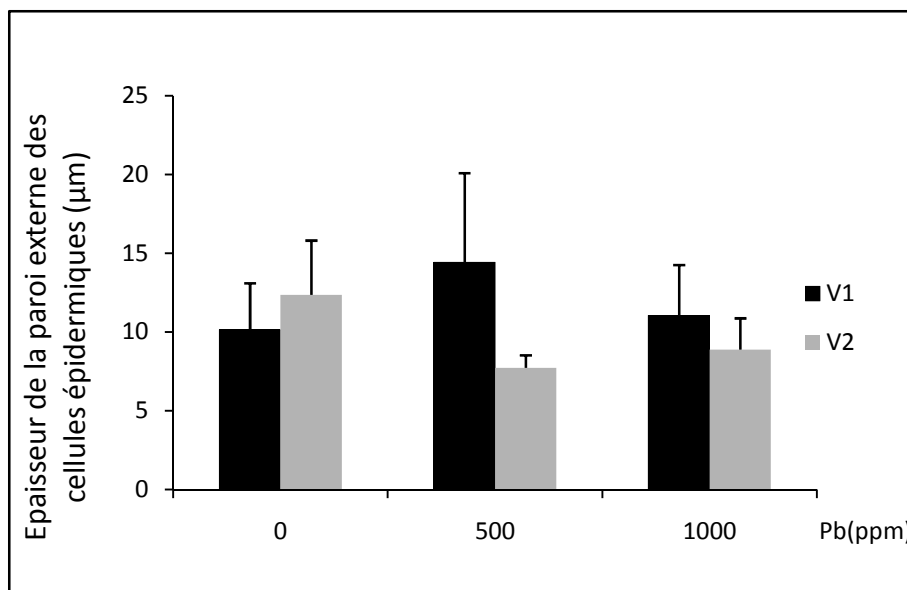
\*\*\* : Très hautement significatif

Pour les résultats moyens (Tab.54), chez le génotype Sidi Aïch, les plants témoins enregistrent une épaisseur moyenne de 10.15µm. Cependant, pour ceux issus des traitements D1 et D2, les valeurs respectives de l'épaisseur sont de l'ordre de 14.44µm et 11.05µm, manifestant des progressions de l'ordre de 42.31% et 8.89%.

Chez le génotype Super Aguadulce, les valeurs des moyennes de l'épaisseur de la paroi externe sont plus faibles que celles pour le premier génotype (Fig.47). Pour le lot témoin, on signale une valeur moyenne de 12.35µm. Les traitements D1 et D2 inscrivent dans un ordre respectif 7.73 et 8.89µm évaluant des régressions par rapport au témoin de l'ordre de 37.44% et 28.05.

**Tableau n°54** : L'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermique (µm) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 500 et 1000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes ± écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Epaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques (µm)	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	10.15 ± 2.95	-
	500	14.44 ± 5.65	42.31
	1000	11.05 ± 3.21	8.89
Sup Aguadulce	0	12.35 ± 3.46	-
	500	7.73 ± 0.80	-37.44
	1000	8.89 ± 1.98	-28.05



**Figure n°47 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de l'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques ( $\mu\text{m}$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 500 et 1000 ppm).

o **Application 2:**

L'analyse des résultats (Tab.53) obtenus lors de la seconde phase du stress, démontre que l'élaboration de l'épaisseur de la paroi est significativement influencée par l'application du plomb ( $p < 0.005$ ). Le facteur génotypique ne manifestent qu'un faible effet ( $p > 0.05$ ). L'interaction entre les facteurs d'étude (dose de Pb \* génotype) a un effet significatif ( $p < 0.05$ ), ce qui indique que les deux génotypes testés réagissent de manières différentes à l'égard de l'application du plomb.

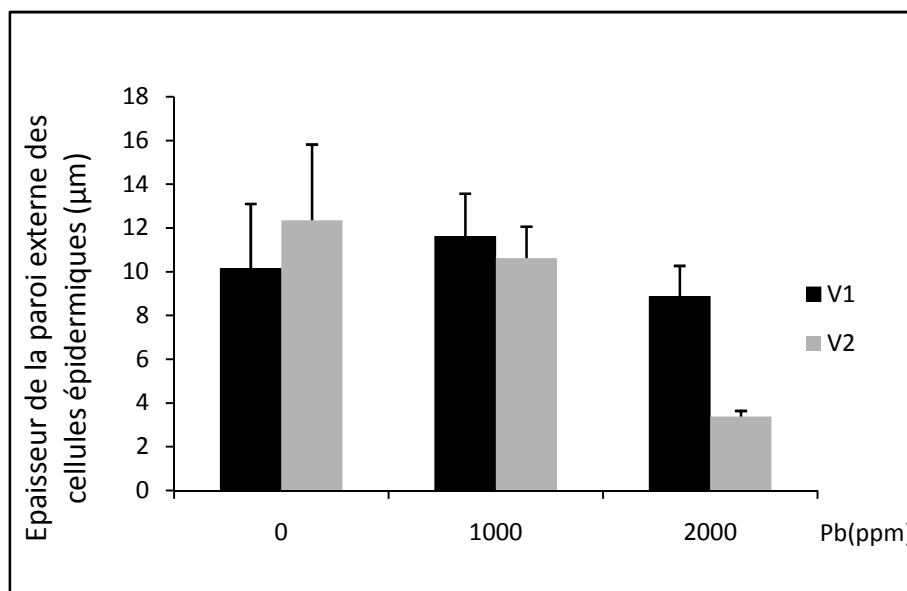
Les résultats moyens (Tab.54) révèlent une tendance de diminution de l'épaisseur des parois externes des cellules épidermiques en fonction de la dose de Pb appliquée. Cette diminution est très nette pour le génotype Super Aguadulce (Fig.48).

Ainsi, chez ce dernier génotype et dans le lot témoin, les valeurs moyennes relevées pour ce paramètre sont de  $12.35\mu\text{m}$ . Les plants conduits en traitements D1 et D2, inscrivent des moyennes évaluées dans un ordre respective à  $10.63$  et  $3.39\mu\text{m}$  inscrivant des diminutions de l'ordre de  $13.99\%$  et  $72.58\%$ .

Chez le génotype Sidi Aïch, on relève dans le lot le témoin une valeur moyenne de  $10.15\mu\text{m}$ . Dans les lots D1 et D2, ces valeurs sont respectivement de  $11.62\mu\text{m}$  et  $8.87\mu\text{m}$ , évaluant pour D1 une augmentation par rapport au témoin de  $14.52\%$ , et une diminution pour D2 de l'ordre de  $12.59\%$  par rapport au témoin.

**Tableau n°54 :** L'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermique ( $\mu\text{m}$ ) des deux génotypes de *Vicia faba* exposés aux différents traitements de plomb (0, 1000 et 2000 ppm). Les résultats sont présentés en Moyennes  $\pm$  écart-type, suivant le test de Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

Génotype	Dose de Pb (ppm)	Epaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques ( $\mu\text{m}$ )	Evolution (%)
Sidi Aïch	0	$10.15 \pm 2.95^A$	-
	1000	$11.62 \pm 1.95^A$	14.52
	2000	$8.87 \pm 1.40^A$	-12.59
Sup Aguadulce	0	$12.35 \pm 3.46^A$	-
	1000	$10.63 \pm 1.43^A$	-13.99
	2000	$3.39 \pm 0.25^B$	-72.58



**Figure n°48 :** l'évolution des moyennes (moyennes  $\pm$  écart-type) de l'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques ( $\mu\text{m}$ ) pour V1 (sidi Aïch) et V2 (Super Aguadulce) en fonction de la dose du plomb (0, 1000 et 2000 ppm).

La présence de plomb dans le milieu est la source d'une perturbation générale du fonctionnement de la plante, elle conduit à un retard de croissance, de chute de production et à de dommages externes (Sharma et Dubey, 2005).

Sur le plan anatomique, la présente étude a montré que la contamination en plomb, suivant les doses retenues, agit différemment sur les paramètres étudiés. Ainsi, pour le nombre de faisceaux cribro-vasculaires, le plomb ne semble avoir aucun effet sur ce paramètre même après l'incorporation de la doses 2000ppm.

Pour la distance entre les faisceaux cribro-vasculaires, l'analyse a démontré que la présence de plomb dans le milieu exerce un effet hautement significatif pour l'application une, et un effet non significatif pour l'application deux. La corrélation entre ce paramètre et la dose de plomb appliquée, est non significative ( $r=-0.27ns$ ) pour l'application une et pour l'application deux ( $r=0.13ns$ ).

Pour le diamètre du métaxylème, les résultats obtenus ont montré que le plomb exerce un effet significatif pour l'application une, et un effet non significatif pour l'application deux. Egalement la corrélation entre ce paramètre et la dose de plomb ajoutée est non significative ( $r=0.24ns$ ) pour l'application une et ( $r=0.025ns$ ) pour l'application deux, mais cette corrélation reste dans le sens positif témoignant d'une augmentation du diamètre du métaxylème en fonction de l'augmentation de la dose de plomb appliquée.

Enfin, pour l'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques, ce paramètre n'est pas influencé par la présence de plomb dans le milieu qu'après la deuxième application ( $p<0.005$ ). Cela se traduit par une corrélation significative est négative ( $r=-0.61^*$ ) pour l'application deux. Contrairement à la première application, où la corrélation enregistrée entre la dose de Pb est l'épaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques est non significative ( $r=-0.15ns$ ).

# **Conclusion Générale**

## CONCLUSION GENERALE

---

Les résultats obtenus dans le cadre de la présente étude ont révélé les principaux effets de la contamination par le plomb sur le comportement biologique de deux géotypes de la fève. Les différents paramètres testés sur les deux géotypes de *Vicia faba* ont permis de montrer, que le plomb induit des effets délétères, aussi bien à l'échelle de la partie aérienne qu'au niveau des racines. Ces résultats démontrent que le plomb présent dans le milieu est à la source de nombreuses modifications, morphologiques physiologiques et anatomiques. On note également que ces effets restent fortement conditionnés par le stade de perception du stress.

La survenue du stress au cours de la germination, induit de nombreuses transformations, situées à différents niveaux. Ces modifications se traduisent essentiellement par un accroissement de l'activité des enzymes impliquées dans la solubilisation des réserves polysaccharidiques, en particulier les -amylases. L'application des différentes doses de plomb dans le milieu de germination permet une élévation de l'activité de ces enzymes, inscrivant des évolutions qui atteignent plus de 27% pour Sidi Aïch et plus de 24% pour Super Aguadulce.

Les autres processus de la germination des graines se trouvent significativement inhibés par l'application du plomb. Ils sont principalement, représentés par un ralentissement de l'élongation de la radicule, qui a enregistré des diminutions notables en fonction de la dose de plomb appliquée. Cette diminution a atteint chez le géotype Sidi Aïch 48% pour la dose 1000ppm. Néanmoins, la sensibilité des géotypes testés s'avère grandement controversée, ainsi, chez Super Aguadulce l'application de la dose de 1000ppm dans le milieu de germination a complètement inhibé la croissance en longueur de la radicule.

La réduction de la cinétique de croissance végétative, s'avère l'un des principaux effets engendrés par la contamination avec le plomb. Les résultats indiquent que les grandeurs de l'ensemble des paramètres morphologiques se trouvent déprimées en réaction de l'application du stress. Les diminutions concernent la surface foliaire (7 à 35%), le nombre de feuilles (15 à 45%), le nombre de gousses (19 à 69%) et la hauteur de la tige (12 à 55%).

Les effets ressentis par le système racinaire sont d'une acuité plus marquée. L'ensemble des paramètres mesurés se trouvent diminués par l'application du plomb. On enregistre des réductions de la longueur (11 à 22%) et du volume racinaire (29 à 63%).



## *CONCLUSION GENERALE*

---

Sur le plan physiologique, les effets du plomb restent tributaires de la nature du paramètre concerné. L'application du plomb s'accompagne généralement, d'une perte de turgescence cellulaire, estimée par la teneur relative en eau. Les réactions des génotypes testés pour l'élaboration de ce paramètre restent différentes, confirmant l'existence d'une variabilité comportementale au sein de cette espèce.

Les observations indiquent que la contamination avec le plomb, induit une perturbation de l'activité photosynthétique des plants soumis. Ceci se confirme par une nette diminution des teneurs en pigments assimilateurs des organes photosynthétiques, accompagnant l'application du plomb.

Parmi les réactions entreprises par les plants soumis au stress, figure la tendance à une mise en place d'une stratégie d'ajustement osmotique. Ainsi, on note une accumulation significative des sucres solubles et de la proline qui reste proportionnelle à l'intensité du stress imposé.

Le suivi de l'évolution du taux des protéines relevé pour les deux génotypes expérimentés, a permis de constater une tendance de diminution de ces taux en fonction de l'intensité du stress appliqué, cette diminution atteint son maximum après l'application de la dose 2000ppm, et enregistre ainsi, 36% pour Sidi Aïch et 34% pour Super aguadulce. Ces observations démontrent que la présence du plomb inhibe la protéosynthèse et affecte fortement la qualité du produit fourni.

Sur le plan anatomique, les constatations enregistrées ont permis de signaler des divergences dans l'évolution des paramètres effectués en fonction de l'intensité du stress de plomb imposé, en fonction de la variabilité génotypique ainsi qu'en fonction de l'interaction entre ces deux facteurs.

En résumé, les observations réalisées durant notre travail ont révélé que la présence du plomb dans le milieu engendre des perturbations multiples sur le fonctionnement général des plantes testées, avec une variabilité très distincte entre les deux génotypes. Sur le plan adaptation, les plantes du génotype Sidi Aïch enregistrent des valeurs de production de biomasse plus importantes que le génotype Super Aguadulce, ce dernier enregistre des valeurs plus importantes du taux de protéines que celui du Sidi Aïch.

Enfin, il conviendrait de suivre cette étude par des travaux évaluant la localisation et la dynamique du plomb au sein de la plante.

**Références**

**Bibliographiques**

- ❧\* LISTE DES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES \*❧ -

**Alloway BJ**, 1995. Heavy metals in soils. Londres: Blackie Academic and Professional, London, 2nd Edition, 368p.

**An Y-J**, 2006. Assessment of comparative toxicities of lead and copper using plant assay. Chemosphere 62(8): 1359-1365.

**Ariès S**, 2001. Mise en évidence de contaminations métalliques historiques à partir de l'étude d'enregistrements sédimentaires de lacs de haute montagne. Thèse de doctorat, Université de Toulouse III, p276.

**Arshad M; Silvestre J; Pinelli E; Kallerhoff J; Kaemmerer M; Tarigo A; Shahid M; Guiresse M; Pradere P; Dumat C**, 2008. A field study of Pb phytoextraction by various scented Pelargonium cultivars. Chemosphere 71, 2187-2192.

**Atici; Ouml; Aar G; Battal P**, 2005. Changes in phytohormone contents in chickpea seeds germinating under lead or zinc stress. Biologia Plantarum 49: 215-222.

**Aubert H et Pinta M**, 1977. Developments in Soil Science 7, TRACE ELEMENTS IN SOILS. O.R.S.T.O.M, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHING COMPANY, First edition, Amsterdam, p395.

**Aydinalp C et Marinova S**, 2009. The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*). Bulgarian Journal of Agricultural Science, 15 (4): 347-350.

**Azouz MM; Youssef MM; Al-Omair MA**, 2011. Comparative evaluation of zinc and lead and their synergistic effects on growth and some physiological responses of Hassawi Okra (*Hibiscus esculentus*) seedlings. American journal of plant physiology 6 (6): 269-282.

**Baize D**, 1997. Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). INRA Editions, Paris, 408 pp.

**Baize D**, 2000. Teneurs en métaux lourds dans les sols : résultats généraux du programme ASPIPET. Courrier de l'Environnement 39 : 39-54.

**Baize D**, 2002. Les éléments traces métalliques dans les sols. Approches fonctionnelles et spatiales. INRA Éditions, Paris. 570 p.

**Baker AJM ; Walker PL**, 1990. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: Shaw, J. (Ed.). Heavy Metal Tolerance in plants: Evolutionary aspects. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 155-178.

**Barbosa J ; Cabral T ; Ferreira D ; Agnez-Lima L ; Batistuzzo de Medeiros S**, 2010. Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals. Ecotoxicology Environmental Safety 73(3):320-325.

**Barcelo J et Poschenrieder C**, 1990. Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review." Journal of Plant Nutrition. Vol/Issue: 13(1): 1-37.

- Barrs C et Weatheley PE**, 1968. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences* 15: 413- 428.
- Barrs C; Weatheley PE**, 1968. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences* 15: 413-428.
- Bazzaz FA; Carlson RW; Rolfe GL**, 1975. Inhibition of Corn and Sunflower Photosynthesis by Lead. *Physiologia Plantarum* 34(4): 326-329.
- Beltagi M S**, 2005. Phytotoxicity of lead (Pb) to SDS-PAGE Protein Profile in Root Nodules of Faba Bean (*Vicia Faba* L.) plants. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 8(5) : 687-690.
- Bennett MD**, 1976. DNA amount, latitude, and crop plant distribution. *Environ. Exp. Bot.* 16(2-3):93-98, IN1-IN2, 99-108.
- Bennett MD**, 1976. DNA amount, latitude, and crop plant distribution. *Environ. Exp. Bot.* 16(2-3):93-98, IN1-IN2, 99-108.
- Béraud E**, 2007. Etude des effets génotoxiques et de l'induction des phytochélatines chez *Vicia faba* (Fabaceae) exposée au cadmium. Application du test Vicia-micronoyaux à des matrices complexes. Metz: Université de Metz. 107 p.
- Bhushan B et Gupta K**, 2008. Effect of lead on carbohydrate mobilization in oat seeds during germination. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* Vol. 12(2): 29-33.
- Bittell JE; Koeppe DE; Miller RJ**, 1974. Sorption of Heavy Metal Cations by Corn Mitochondria and the Effects on Electron and Energy Transfer Reactions. *Physiologia Plantarum* 30(3): 226-230.
- Bourg ACM.**, 1988. Metal in aquatic and terrestrial systems : sorption, speciation and mobilisation. In *Chemistry and biology of solid waste*, Salmons W., Forstener U., U. Eds., New-York: Springer Verlag, 3-30.
- Bourrelier P et Berthelin J**, 1998. Contamination des sols par les éléments traces : les risques et leur gestion. Rapport de l'Académie des sciences Ed. Lavoisier, Paris, 42 pp.
- BRGM**, 2004. Guide méthodologique du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués. Rapport final, BRGM/RP-52881-FR.
- Briat JF ; Lebrun M**, 1999. Plant responses to metal toxicity. *Plant Biology and Pathology*, Académie des Sciences, Elsevier, Paris, 322: 43-54.
- Brooks RR**, 1998. Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals. In: Brooks, R.R. (Ed.). *CAB International*, Wallingford, pp 289-312.
- Brun LA ; Maillet J ; Richarte J ; Herrmann P ; Remy JC**, 1998. Relationship between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils. *Environmental Pollution* 102: 151-161.

- Brunet J ; Repellin A ; Varrault G ; Terryn N ; Zuily-Fodil Y**, 2008. Lead accumulation in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus* L.): a novel plant for phytoremediation systems?. Plant biology and pathology/Biologie et pathologie végétales. C.R. Biologies 331: 859-864.
- Brunet J ; Varrault G ; Zuily-Fodil Y ; Repellin A**, 2009. Accumulation of Pb in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) plants triggers systemic variation in gene expression in the shoots. Chemosphere 77, 1113-1120.
- Brunet J**, 2008. Adaptation aux métaux lourds d'une Fabacée (légumineuse) : Réponses phénologique et moléculaire au plomb du *Lathyrus sativus* L. Thèse de doctorat, Université Paris Est, p231.
- Buatier M ; Sobanska S ; Elsass F**, 2001. TEM-EDS investigation on Zn and Pb contaminated soils. Applied Geochemistry 16 (9-10): 1165-1177.
- Burzynski M**, 1987. The influence of lead and cadmium on the absorption and distribution of potassium, calcium, magnesium and iron in cucumber seedlings. Acta Physiologiae Plantarum 9: 229-238.
- Carlu J**, 1952. Fèves et féveroles. Larousse agricole, 204 p.
- Cecchi M**, 2008. Devenir du plomb dans le système sol-plante Cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (Fève et Tomate). Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, 226p.
- Cenkci S ; Cigerci IH ; Yildiz M ; Özay C ; Bozdogan A ; Terzi H**, 2010. Pb contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. Environ Exp Bot 67(3):467-473.
- Chaignon V**, 2001. Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées. Cas de sols viticoles contaminés par des fongicides. Thèse : Ecole doctorale, Sciences de l'Environnement : Système Terre, Université d'Aix-Marseille.
- Chardonnens AN ; Koevoets PLM ; Van Zanten A ; Schat H ; Verkleij JAC**, 1999. Properties of enhanced tonoplast zinc transport in naturally selected zinc-tolerant *Silene vulgaris*. Plant Physiology 120, 779-785.
- Chatterjee C ; Dube BK ; Sinha P ; Srivastava P**, 2004. Detrimental effects of Pb phytotoxicity on growth, yield, and metabolism of rice. Comm Soil Sci Plant An 35(1-2):255-265.
- Chen J ; Zhu C ; Li L-p ; Sun Z-y ; Pan X-b**, 2007. Effects of exogenous salicylic acid on growth and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-metabolizing enzymes in rice seedlings under lead stress. Journal of Environmental Sciences 19(1): 44-49.
- Choudhury S ; Panda S**, 2005. Toxic effects, oxidative stress and ultrastructural changes in moss *Taxithelium nepalense* (Schwaegr.) Broth. under chromium and Pb phytotoxicity. Water Air Soil Pollut 167(1):73-90.
- Chuang MC ; Shu GY ; Liu JC**, 1996. Solubility of heavy metal in a contaminated soil: effects of redox potential and pH. Water, Air and Soil Pollution 34: 543-556.

**Chumbley CG ; Unwin RJ**, 2004. Cadmium and lead content of vegetables crops grown on land with an history of sewage sludge application. *Environmental Pollution (Series B)* 4: 231-237.

**Cobb G; Sands K; Waters M; Wixson B ; Dorward-King E**, 2000. Accumulation of heavy metals by vegetables grown in mine wastes. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19(3): 600-607.

**Cotelle S**, 1999. Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures. Metz: Université de Metz. 179 p.

**Cotter-Howells J ; Champness PE ; Charnock JM**, 1999. Mineralogy of Pb-P grains in the roots of *Agrotis capillaries* L. by ATEM and EXAFS. *Mineralogical Magazine* 63: 777-789.

**Cui YL ; Zhu YG ; Zhai RH ; Chen.DY ; Huang YZ ; Qui Y**, 2004. Transfer of metals from soil to vegetables in an area near a smelter in Nanning, China. *Environmental Pollution* 2: 181-188.

**Dahmani-muller H; Van Oort F; Gelie B; Balabane M**, 1999. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environmental Pollution* 109, 1-8.

**De Marco A ; De Simone C ; Raglione M ; Lorenzoni P**, 1995. Influence of soil characteristics on the clastogenic activity of maleic hydrazide in root tips of *Vicia faba*. *Mutat. Res.-Genet. Toxicol. Environ. Mutag.* 344(1-2):5-12.

**Degrassi F; Rizzoni M**, 1982. Micronucleus test in *Vicia faba* root tips to detect mutagen damage in fresh-water pollution. *Mutat. Res.-Environ. Mutag. Related Subj.* 97(1):19-33.

**Deneux-Mustin S ; Roussel-Debet S ; Mustin C ; Henner P ; Munier-Lamy C ; Colle C ; Berthelin J ; Garnier-Laplace J ; Leyval C**, 2003. Mobilité et transfert racinaire des éléments en traces : influence des micro-organismes du sol. TEC & DOC, Paris.

**Dey SK; Dey J; Patra S; Pothal D**, 2007. Changes in the antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in wheat seedlings exposed to cadmium and lead stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19: 53-60.

**Dirilgen N**, 2011. Mercury and lead: Assessing the toxic effects on growth and metal accumulation by *Lemna minor*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74, 48–54.

**Diyab C ; Juillot F ; Dumat C**, 2003. Study of Pb phosphates in the rhizosphere soils of various plants by chemical and physical technics. International Conference on Metals in the environment, Grenoble.

**Diyab C**, 2005. Influence des plantes (Pois et Tomate) et des amendements phosphates (solide ou soluble) sur la spéciation et la phytodisponibilité des métaux (Pb et Zn) dans un sol contaminé par les retombées atmosphériques d'une usine pyrométallurgique. Thèse de doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, 271p.

**Dreier W ; Göring M**, 1974. Der einfluss hoher salzkonzentration auf verschieden physiologische parameter von maiswurzeln. Win Z. der HU Berlin, Nath. Naturwiss. R., 23 : 641-644.

**Duan CQ; Hu B; Jiang XH; Wen CH; Wang Z; Wang YX**, 1999. Genotoxicity of water samples from Dianchi lake detected by the *Vicia faba* micronucleus test. Mutat. Res.-Fundam. Mol. Mech. Mutag. 426(2):121-125.

**Duc G**, 1997. Faba bean (*Vicia faba* L.). Field Crops Res. 53:99-109.

**Dumat C; Chiquet A; Goody D; Aubry E; Morin G; Juillot F; Benedetti M.F**, 2001. Metal ion geochemistry in smelter-impacted soils and soil solutions. Bulletin de la Société Géologique de France, 172: 539-548.

**Dumat C; Quenea K; Bermond A; Toinen S; Benedetti MF**, 2006. A study of the trace metal ion influence on the turn-over of soil organic matter in various cultivated contaminated soils. Environmental Pollution, 142: 521-529.

**Elzbieta W; Mirosława C**, 2005. Pb-induced histological and ultrastructural changes in the leaves of soybean (*Glucine max* L. Merr.). Soil Sci Plant Nutr 51(2):203-212.

**Evans HJ; Scott D**, 1963. Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by X rays and maleic hydrazide in *Vicia faba*. Genetics 49:17-38.

**Evans LJ**, 1989. Chemistry of metal retention by soils. Environmental Science and technology 23: 1046-1056.

**Evans LT**, 1959. Environmental Control of Flowering in *Vicia faba* L. Ann. Bot. 23(4):521-546.

**Farooqi ZR; Zafar Iqbal M; Kabir M; Shafiq M**, 2009. Toxic effects of lead and cadmium on germination and seedling growth of *Albizia lebbeck* L. Benth. Pak. J. Bot., 41(1): 27-33.

**Ferrand E; Dumat C; Leclerc-Cessac E; Benedetti M**, 2006. Phytoavailability of zirconium in relation to its initial added form and soil characteristics. Plant Soil; 287: 313-325.

**Ferrara G ; Loffredo E ; Senesi N**, 2004. Anticlastogenic, antitoxic and sorption effects of humic substances on the mutagen maleic hydrazide tested in leguminous plants. Eur. J. Soil Sci. 55(3):449-458.

**Foltete AS**, 2010. Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués. Thèse de doctorat, Université Paul Verlaine – Metz, p245.

**Gaji G; Mitrovi M; Pavlovi P; Stevanovi B ; Djurdjevi L ; Kosti O**, 2009. An assessment of the tolerance of *Ligustrum ovalifolium* Hassk. to traffic-generated Pb using physiological and biochemical markers. Ecotoxicology and Environmental Safty 72 : 1090-1101.

- Gallais A ; Bannerot H**, 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées: objectifs et critères de sélection. Paris: INRA.
- Garcia JS; Gratao PL; Azevedo RA ; Arruda MAZ**, 2006. Metal Contamination Effects on Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Growth and Protein Expression in Leaves During Development. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 54(22): 8623-8630.
- Garland C ; D Wilkins**, 1981. Effect of Calcium on the Uptake and Toxicity of Lead in *Hordeum vulgare* L. and *Festuca ovina* L. *New Phytologist* 87(3): 581-593.
- Gastaldo J; Viau M; Bencokova Z; Joubert A; Charvet AM; Balosso J; Foray N**, 2007. Lead contamination results in late and slowly repairable DNA double-strand breaks and impacts upon the ATM-dependent signaling pathways. *Toxicology Letters* 173(3): 201-214.
- Gichner T; Znidar I; Száková J**, 2008. Evaluation of DNA damage and mutagenicity induced by Pb in tobacco plants. *Mutat Res/Genet Toxicol Environ Mutagen* 652(2):186-190.
- Gobat J. M ; Aragno M ; Matthey W**, 1998. Le sol vivant. Bases de pédologie, biologie des sols, Presses polytechniques et universitaires romandes, vol 14, coll. gérer l'environnement, 592pp.
- Gopal R; Rizvi AH**, 2008. Excess Pb alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish. *Chemosphere* 70(9):1539-1544.
- Govindjee DW**, 1976. Effects of lead ions on photosystem I in isolated chloroplasts: studies on the reaction center P700. *Photosynthetica* 10(3), 241.
- Grant WF; Owens ET**, 2001. Chromosome aberration assays in *Pisum* for the study of environmental mutagens. *Mutat. Res. - Rev. Mut. Res.* 488(2):93-118.
- Grover P ; Rekhadevi P ; Danadevi K ; Vuyyuri S ; Mahboob M ; Rahman M**, 2010. Genotoxicity evaluation in workers occupationally exposed to Pb. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 213: 99-106.
- Gupta D; Huang H; Yang X; Razafindrabe B; Inouhe M**, 2010. The detoxification of Pb in *Sedum alfredii* H. is not related to phytochelatins but the glutathione. *J Hazard Mater* 177(1-3):437-444.
- Gupta D; Nicoloso F; Schetinger M; Rossato L; Pereira L; Castro G; Srivastava S; Tripathi R**, 2009. Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown *Zea mays* seedlings under moderate Pb stress. *J Hazard Mater* 172(1):479-484.
- Hammett FS**, 1928. Studies in the biology of metals. *Protoplasma* 5(1): 535-542.
- Hatira A ; Gallali T ; Rouillet J ; Guillet B**, 1990. Stabilité et solubilité des complexes formés entre le cuivre, le plomb, le zinc et les acides fulviques. *Science du Sol* 28 : 123-135.



- Hedaya A K**, 2008. Lead Accumulation and its Effect on Photosynthesis and Free Amino Acids in *Vicia faba* Grown Hydroponically. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2(3): 438-446.
- Heidari M et Sarani S**, 2011. Effects of lead and cadmium on seed germination, seedling growth and antioxidant enzymes activities of mustard (*Sinapis arvensis* L.). ARPN Journal of Agricultural and Biological Science. Vol. 6, no. 1: 44-47.
- Herzog H**, 1984. Relation of source and sink during grain filling period in wheat and some aspects of its regulation. Physiol. Plant 56: 155-160.
- Hinsinger P ; Schneider A; Dufey J.E**, 2005. Le sol : ressource en nutriments et biodisponibilité. In « Sols et Environnement », Dunod (ed), Paris, 285-305.
- Hinsinger P**, 1998. How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. Advances in Agronomy 24: 225-265.
- Hinsinger P**, 2001. Bioavailability of trace elements as related to root-induced chemical changes in the rhizosphere. Trace Elements in the Rhizosphere. G. G.R., W. W.W. and Lombi. Boca Raton, Florida, USA CRC Press LCC: 25-41.
- Hinsinger P**, 2004. Rhizosphere: Nutrient Movement and Availability. Encyclop Plant Crop Sci 1094-1097.
- Hinsinger P; Gilkes RJ**, 1996. Mobilisation of phosphates rock and alumina-sorbed phosphate by roots of ryegrass and clover as related to rhizosphere pH. European Journal of Soil Science. 47: 53-544.
- Hu J ; Shi G ; Xu Q ; Wang X ; Yuan Q ; Du K**, 2007. Effects of Pb<sup>2+</sup> on the active oxygen-scavenging enzyme activities and ultrastructure in *Potamogeton crispus* leaves. Russian Journal of Plant Physiology 54(3): 414-419.
- Huang G; Bazzaz FA; Vanderhoef LN**, 1974. The inhibition soybean metabolism by cadmium and lead. Plant Physiol. 54, 122-124.
- Islam E; Liu D; Li T; Yang X; Jin X; Mahmood Q; Tian S ; Li J**, 2008. Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. Journal of Hazardous Materials 154: 914-926.
- Islam E; Yang X; Li T; Liu D; Jin X; Meng F**, 2007. Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. Journal of Hazardous Materials 147(3): 806-816.
- Jana S ; M Choudhuri**, 1982. Senescence in submerged aquatic angiosperms: effects of heavy metals. New Phytologist 90(3): 477-484.
- Jiang W; Liu D**, 2010. Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L. BMC Plant Biol. 10:40-40.
- JohnR; Ahmad P; Gadgil K; Sharma S**, 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. . Plant Soil Environ., 54 (6): 262-270.

- Johnson FM**, 1998. The genetic effects of environmental lead. *Mutation Research* 410: 123-140.
- Jones DL**, 1998. Organic acids in the rhizosphere – a critical review. *Plant Soil* 205: 25-44.
- Juste C ; Chassin P ; Gomez A ; Lineres M ; Mocquot B ; Feix, I ; Wiart J**, 1995. Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduelles des stations d'épuration urbaines. ADEME Éditions, p209.
- Juste C**, 1988. Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces du sol. *Sci. Sol* 26 (2) 103-112.
- Kabata-Pendias A ; Pendias H**, 1992. Trace elements in soils and plants. 2nd edition CRC press, Boca Raton, FL.
- Kanaya N; Gill BS; Grover IS; Murin A; Osiecka R; Sandhu SS; Andersson HC**, 1994. *Vicia faba* chromosomal aberration assay. *Mutat. Res.-Fundam. Mol. Mech. Mutag.* 310(2):231-247.
- Khan D; Frankland B**, 1983. Effects of cadmium and lead on radish plants with particular reference to movement of metals through soil profile and plant. *Plant and Soil* 70(3): 335-345.
- Kinniburgh ; Milne CJ ; Benedetti MF ; Pinheiro JP ; Filius J ; Koopal LK ; Van Riemsdijk WH**, 1996. Metal ion binding by humic acid: application of the NICA-Donnan Model. *Environmental Science and Technology* 30: 1687-1698.
- Kjeldahl J**, 1883. A new method for the determination of nitrogen in organic matter. *Zeitschrift für Analytische Chemie.* 22: 366-382.
- Kopittke PM; Colin JA; Kopittke RA; Menzies NW**, 2007. Toxic effects of Pb<sup>2+</sup> on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environmental Pollution*, in press.
- Koppen G; Verschaeve L**, 1996. The alkaline comet test on plant cells: A new genotoxicity test for DNA strand breaks in *Vicia faba* root cells. *Mutat. Res.-Environ. Mutag. Related Subj.* 360(3):193-200.
- Kosobrukhov A; Knyazeva I ; Mudrik V**, 2004. Plantago major plants responses to increase content of lead in soil: Growth and photosynthesis. *Plant Growth Regulation* 42: 145-151.
- Kovalchuk I; Titov V; Hohn B ; Kovalchuk O**, 2005. Transcriptome profiling reveals similarities and differences in plant responses to cadmium and lead. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 570(2): 149-161.
- Lamand M**, 1991. Les oligoéléments dans la biosphère. In : Chappuis P. (ed.). Les oligoéléments en médecine et biologie. SFERETE, Lavoisier Tec & Doc, Paris, 25-39.
- Lamy I**, 2002. Réactivité des matières organique des sols vis-à-vis des métaux. Journées nationales de l'étude des sols. 22-24 octobre, Orléans.

**Lasat MM**, 2002. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality* 39: 109-120.

**Li LY ; Li RS**, 2000. The role of clay minerals and the effects of H<sup>+</sup> ions on removal of Heavy metals (Pb<sup>2+</sup>) from contaminated soils. *Canadian Journal of Geotechnology* 37 (2): 296-307.

**Lichtenthaler H K**, 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. *Methods Enzymology*, 148: 350–381.

**Lin AJ; Zhang XH; Chen MM; Cao Q**, 2007. Oxidative stress and DNA damages induced by cadmium accumulation. *J. Environ. Sci. (China)* 19(5):596-602.

**Liu D; Jiang W; Liu C; Xin C ; Hou W**, 2000. "Uptake and accumulation of lead by roots, hypocotyls and shoots of Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Bioresource Technology* 71(3): 273-277.

**Liu D; Li T; Jin X; Yang X; Islam E; Mahmood Q**, 2008. Pb induced changes in the growth and antioxidant metabolism of the Pb accumulating and non-accumulating ecotypes of *Sedum alfredii*. *J Integr Plant Biol*, 50(2):129-140.

**Liu T; Liu S; Guan H; Ma L; Chen Z; Gu H**, 2009. Transcriptional profiling of *Arabidopsis* seedlings in response to heavy metal Pb (Pb). *Environ Exp Bot*, 67(2):377-386.

**Loudes JP**, 2002. Mise au point de biotests sur les plantes pour mettre en évidence un effet toxique ou agronomique de substances exogènes (Zinc, Plomb, Substances Humiques). ENSAT. Rapport DEA.

**Luan ZQ ; Cao HC ; Yan BX**, 2008. Individual and combined phytotoxic effects of cadmium, lead and arsenic on soybean in *Phaeozem*. *PLANT SOIL ENVIRON.*, 54,(9): 403–411.

**Łukaszek M ; Poskuta J**, 1998. Development of photosynthetic apparatus and respiration in pea seedlings during greening as influenced by toxic concentration of lead. *Acta Physiologiae Plantarum* 20(1): 35-40.

**MacLaughlin MJ ; Zarcinas BA ; Stevens BA ; Cook N**, 2000. Soil testing for heavy metals. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 31:1661-1700.

**Makowski E; Kita A; Galas W; Karcz W ; Kuperberg JM**, 2002. Lead distribution in corn seedlings (*Zea mays* L.) and its effect on growth and the concentrations of potassium and calcium. *Plant Growth Regulation* 37: 69-76.

**Małecka A; Piechalak A; Morkunas I; Tomaszewska B**, 2008. Accumulation of lead in root cells of *Pisum sativum*. *Acta Physiologiae Plantarum*.

**Marcato-Romain C ; Guiresse M ; Cecchi M ; Cotelle S ; Pinelli E**, 2009. New direct contact approach to evaluate soil genotoxicity using the *Vicia faba* micronucleus test. *Chemosphere* 77:, 345-350.

**Marschner H**, 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Presse, London, 2nd Edition, 889 p.

**Martinez CE ; Motto HL**, 2000. Solubility of lead, zinc and copper added to mineral soils. *Environmental Pollution* 107: 153-158.

**Mathieu C et Pielan F**, 2003. Analyse chimique des sols- Méthodes choisies. Ed Tec &Doc, Lavoisier, Paris, pp.351-376.

**Mattina MJL; Lannucci-Berger W ; Musante C ; White JC**, 2003. Concurrent plant uptake of heavy metals and persistent organic pollutants from soils. *Environmental pollution*, 124: 375-378.

**Mench M ; Morel JL ; Guckert A ; Guillet B**, 1988. Metal binding with roots exudates of low molecular weight. *Journal of Soil Science* 39: 521-527.

**Migeon A**, 2009. Etude de la variabilité naturelle dans la réponse du peuplier aux métaux : bases physiologiques et exploitation en phytoremédiation. Thèse de doctorat de l'Université Henri Poincaré, Nancy-Université, p346.

**Miquel MG**, 2001. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé, rapport de l'office parlementaire des choix scientifiques (Sénat).

**Mishra A ; Choudhuri MA**, 1998. Amelioration of lead and mercury effects on germination and rice seedling growth by antioxidants. *Biologia Plantarum* 41(3): 469-473.

**Mishra S; Srivastava S; Tripathi RD; Govindarajan R; Kuriakose SV; Prasad MNV**, 2006a. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L[lozenges]. *Plant Physiology and Biochemistry* 44(1): 25-37.

**Mishra S; Srivastava S; Tripathi RD; Kumar R; Seth CS ; Gupta DK**, 2006b. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatin and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere* 65(6): 1027-1039.

**Mohan BS ; Hosetti BB**, 1997. Potential phytotoxicity of lead and cadmium to lemna minor grown in sewage stabilization ponds. *Environmental Pollution* 98(2): 233-238.

**Monneveux P et Nemmar M**, 1986. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*T. aestivum* L.) et chez le blé dur (*T. durum* Desf). Etude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*, 6(6) : 583-590.

**Morel J.L**, 1997. Bioavailability of trace elements to terrestrial plants. - Chapter 6, In : pp 141-176, J. Tarradellas, G. Bitton and D. Rossel (eds.), *Soil Ecotoxicology*, Lewis Publishers, CRC Press, Boca Raton, FL.

**Morin G ; Ostergren JD ; Juillot F ; Ildelfonse P ; Calas G ; Brown GE Jr**, 1999. XAFS determination of the chemical form of lead in smelter-contaminated soils and mine tailings: Importance of adsorption processes. *American Mineralogist* 84: 420-434.

**Murkowski A ; Skórska E**, 2008. Comparison of phytotoxicity of lead and tin organic compounds by means of luminescence methods. *Acta Agrophysica*, 2008, 11(1) : 131-140.

- Nriagu J**, 1990. Global Metal Pollution: Poisoning the Biosphere. *Environment ENVTAR* 32(7): 7-11;28-33.
- Nriagu JO ; Moore PB**, 1984. Phosphate minerals Springer –Verlag, New-York.
- Nye PH**, 1986. Acid-base changes in the rhizosphere. *Advance in Plant Nutrition* 2: 129-1253.
- Obroucheva NV; Bystrova EI; Ivanov VB; Antipova OV; Seregin IV**, 1998. Root growth responses to lead in young maize seedlings. *Plant and Soil* 200: 55-61.
- OMS**, 1994. Directives de qualité pour l'eau de boisson. 2e édition, Volume 1, Recommandations, OMS, Genève.
- Pais I et J Benton Jones**, 2000. The handbook of Trace Elements. Boca Raton, FL, St. Lucie Press, 223 p.
- Parys E; Romanowska E; Siedlecka M; Poskuta JW**, 1998. The effects of lead on photosynthesis and respiration in detached leaves and mesophyll protoplasts of *Pisum sativum*. *Acta Physiologiae Plantarum* 20: 313-322.
- Patra M ; Bhowmick N ; Bandopadhyay B ; Sharma A**, 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 52: 199-223.
- Piotrowska A ; Bajguz A ; Godlewska-Zylkiewicz B ; Czerpak R ; Kaminska M**, 2009. Jasmonic acid as modulator of Pb toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). *Environ Exp Bot* 66(3):507-513.
- Poskuta J; Parys E ; Romanowska E**, 1987. The effects of lead on the gaseous exchange and photosynthetic carbon metabolism of pea seedlings. *Acta societatis botanicorum Poloniae* 56: 127-137.
- Poskuta J; Parys E; Romanowaska E**, 1987. The effects of lead on the gaseous exchange and photosynthetic carbon metabolism of pea seedlings. *Acta societatis botanicorum Poloniae* 56: 127-137.
- Poskuta J; Parys E; Romanowaska E**, 1996. Toxicity of lead to photosynthesis, accumulation of chlorophyll, respiration and growth of *Chlorella pyrenoidosa*. Protective role of dark respiration. *Acta Physiologiae Plantarum* 18(2): 165-171.
- Pourrut B ; Perchet G; Silvestre J; Cecchi M; Guiresse M; Pinelli E**, 2008. "Potential role of NADPH-oxidase in early steps of lead-induced oxidative burst in *Vicia faba* roots." *Journal of Plant Physiology* 165(6): 571-579.
- Pourrut B**, 2008. Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse, 284p.
- Prasad MNV; De Oliveira Freitas HM**, 2003. Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology* 6, 110-146

- Qufei L; Fashui H**, 2009. Effects of Pb<sup>2+</sup> on the Structure and Function of Photosystem II of *Spirodela polyrrhiza*. Biol Trace Elem Res 129(1):251-260.
- Qureshi M; Abdin M; Qadir S; Iqbal M**, 2007. Lead-induced oxidative stress and metabolic alterations in *Cassia angustifolia* Vahl. Biologia Plantarum 51(1): 121-128.
- Qureshi M; Israr M; Abdin MZ; Iqbal M**, 2005. "Responses of *Artemisia annua* L. to lead and salt-induced oxidative stress. Environmental and Experimental Botany 53(2): 185-193.
- Radetski CM; Ferrari B; Cotelle S; Masfaraud JF; Ferard JF**, 2004. Evaluation of the genotoxic, mutagenic and oxidant stress potentials of municipal solid waste incinerator bottom ash leachates. Sci. Total Environ. 333(1-3):209-216.
- Remon E**, 2006. Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. Thèse de doctorat, université JEAN MONNET, p157.
- Rickard DT ; Nriagu JE**, 1978. Aqueous environmental chemistry of lead. In the Biogeochemistry of lead in the environment . Part A. Ecological Cycles. JO. Nriagu Eds. 219-284, Elsevier, North-Holland, New- New-York.
- Roelfsema MRG; Hedrich R**, 2005. In the light of stomatal opening: new insights into 'the Watergate'. New Phytologist 167(3): 665-691.
- Romanowska E; Igamberdiev AU; Parys E; Gardeström P**, 2002. Stimulation of respiration by Pb<sup>2+</sup> in detached leaves and mitochondria of C3 and C4 plants. Physiol Plant 116(2):148-154.
- Romanowska E; Pokorska B; Siedlecka M**, 2005. The effects of oligomycin on content of adenylates in mesophyll protoplasts, chloroplasts and mitochondria from Pb<sup>2+</sup> treated pea and barley leaves. Acta Physiol Plant 27(1):29-36.
- Romanowska E; Wróblewska B; Drozak A; Siedlecka M**, 2006. High light intensity protects photosynthetic apparatus of pea plants against exposure to Pb. Plant Physiol Biochem 44(5-6):387-394.
- Romheld V ; Muller Ch ; Marschner H**, 1984. Localization and capacity of proton pumps in roots of intact sunflower plants. Plant physiology 76: 603-606.
- Roselli W ; Keller C ; Boschi K**, 2003. Phytoextraction capacity of trees growind on metal contaminated soil. Plant and soil, 256:265-272.
- Ruci ska R; Sobkowiak R; Gwó d EA**, 2004. Genotoxicity of Pb in lupin root cells as evaluated by the comet assay. Cell Mol Biol Lett 9(3):519-528.
- Ruley AT ; Sharma NC ; Sahi SV ; Singh SR ; Sajwan KS**, 2006. Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil. Environnement Pollution 144: 11-18.
- Sang N; Li G**, 2004. Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba* Mutat. Res.-Genet. Toxicol. Environ. Mutag. 560(2):159-165.

**Sanita Di Toppi L ; Gabbrielli R**, 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41, 105-130.

**Saradhi AP ; PP Saradhi**, 1991. Proline accumulation under heavy metal stress. *Journal of Plant Physiology* 138(5): 554-558.

**Sarret G ; Vangronsveld J ; Manceau A ; Musso M ; D'Haden J ; Menthonnex JJ ; Hazemann JL**, 2001. Accumulation forms of Zn and Pb in *Phaseolous vulgaris* in the presence and absence of EDTA. *Environmental Science and Technology* 35: 2854-2859.

**Saxena A ; Saxena DK ; Srivastava HS**, 2003. The Influence of Glutathione on Physiological Effects of Lead and its Accumulation in Moss *Sphagnum squarrosum*. *Water, Air, & Soil Pollution* 143(1): 351-361.

**Sayed SA**, 1999. Effects of lead and kinetin on the growth, and some physiological components of safflower. *Plant Growth Regulation* 29(3): 167-174.

**Sengar RS ; Gautam M ; Sengar RS ; Sengar RS ; Garg SK ; Sengar K ; Chaudhary R**, 2009. Pb stress effects on physiobiochemical activities of higher plants. *Rev Environ Contam Toxicol* 196:1-21.

**Seregin IV ; Ivanov VB**, 2001. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 48 (4): 523-544.

**Seregin IV ; Shpigun LK ; Ivanov VB**, 2004. Distribution and toxic effects of Cadmium and Lead on maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology* 51 (4): 525-533.

**Seregin IV ; Ivanov VB**, 1998. The transport of cadmium and lead ions through root tissues. *Russian Journal of Plant Physiology* 45: 899-905.

**Shafiq M ; Zafar IM ; Athar M**, 2008. Effect of lead and cadmium on germination and seedling growth of *Leucaena leucocephala*. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* Vol. 12(2): 61-66.

**Shahid M ; Pinelli E ; Pourrut B ; Silvestre J ; Dumat C**, 2011. Lead-induced genotoxicity to *Vicia faba* L. roots in relation with metal cell uptake and initial speciation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74: 78-84.

**Shahid M**, 2010. Induction de la phytotoxicité du Plomb chez *Vicia faba* L. : rôles de l'absorption et de la spéciation. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse, p300.

**Sharma P ; Dubey RS**, 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17 (1): 35-52.

**Shields R ; Burnett W**, 1960. Determination of protein bound carbohydrate in serum by a just modified anthrone method. *Anal. Chem.*, 32 : 885-886.

**Shu WS ; Ye ZH ; Lan CY ; Zhang ZQ ; Wong MH**, 2001. Acidification of lead/zinc mine tailing and its effects on heavy metal mobility. *Environment International* 26 (5-6): 389-394.

**Silbergeld EK**, 2003. Facilitative mechanisms of lead as a carcinogen. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 533(1-2): 121-133.

- Silbergeld EK; Waalkes M; Rice J**, 2000. Lead as a carcinogen: Experimental evidence and mechanisms of action. *American Journal of Industrial Medicine* 38(3): 316-323.
- Singh R; Tripathi RD; Dwivedi S; Kumar A; Trivedi PK; Chakrabarty D**, 2010. Pb bioaccumulation potential of an aquatic macrophyte *Najas indica* are related to antioxidant system. *Bioresour Technol* 101:3025-3032.
- Singh RP; Tripathi RD; Sinha SK; Maheshwari R; Srivastava HS**, 1997. Response of higher plants to lead contaminated environment. *Chemosphere* 34(11): 2467-2493.
- Soheir ES; Khalil MY; Naguib NY**, 2002. Investigation of the effect of some elements (B, Mo, Co, Pb) on growth, productivity and quality of *Cymbopogon citratus* L. *Ann. Agric. Sci.* 47(3), 911.
- Sparks DL**, 1995. *Environmental soil chemistry*. Academic Press, New-York.
- Sposito G ; Prost R; Gaultier JP**, 1983. Infrared spectroscopic study of adsorbed water on reduced-charge Na/Li montmorillonites. *Clays and clay minerals* 31: 9-16.
- Stefanov K; Popova I; Kamburova E; Pancheva T; Kimenov G; Kuleva L; Popov S**, 1993. Lipid and sterol changes in *Zea mays* caused by lead ions. *Phytochemistry* 33(1): 47-51.
- Sterckeman T ; Douay F ; Proix N ; Fourrier H**, 2000. Vertical distribution of Cd, Pb and Zn in soils near smelters in the North of France. *Environmental Pollution* 107, 377-389.
- Stevenson AJ**, 1982. *Humus Chemistry*. John Wiley & Son, New York.
- Swaine DJ**, 1986. Lead. In DC Adriano (éd), *Trace elements in the terrestrial environment*. Springer Verlag, New York.
- Tanhan P ; Kruatrachue M ; Pokethitiyook P ; Chaiyarat R**, 2007. Uptake and accumulation of cadmium, lead and zinc by siam weed (*Chromolaena odorata* L.) King & Robinson. *Chemosphere* 68: 323-329.
- Thomé OW**, 1885. *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz* Gera, Germany.
- Tipping E ; Fitch A ; Stevenson FJ**, 1995. Proton and copper binding by humic acid: application of a discrete-site/electrostatic ion-binding model. *European Journal of Soil Science* 46: 95- 101.
- Tomulescu I; Radoviciu E; Merca V; Tuduce A**, 2004. Effect of copper, zinc and lead and their combinations on the germination capacity of two cereals. *Journal of agricultural sciences* 15: 39-42.
- Tremel-Schaub A et Feix I**, 2005. *Contamination des sols Transferts des sols vers les plantes*. EDP Sciences, ADEME Éditions, p 413.
- Troll W et Lindsley J**, 1955. A photometric method for the determination of proline; *J.Biochem*: 655-660.



- Tung G; Temple PJ**, 1996. Uptake and localization of lead in corn (*Zea mays* L.) seedlings, a study by histochemical and electron microscopy. *The Science of the Total Environment* 188: 71-85.
- Valverde M; Trejo C; Rojas E**, 2001. Is the capacity of lead acetate and cadmium chloride to induce genotoxic damage due to direct DNA-metal interaction?. *Mutagenesis* 16(3): 265-270.
- Vassil AD; Kapulnik Y; Raskin I; Salt DE**, 1998. The Role of EDTA in Lead Transport and Accumulation by Indian Mustard. *Plant Physiology* 117(2): 447-453.
- Verma S; Dubey RS**, 2001. Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biol. Planta.* 44: 117-123.
- Wang J; Li W; Zhang C; Ke s**, 2011. Physiological responses and detoxific mechanisms to Pb, Zn, Cu and Cd in young seedlings of *Paulownia fortunei*. *Journal of Environmental Sciences*, 22(12) 1916-1922.
- Wierzbicka M**, 1999a. Comparison of lead tolerance in *Allium cepa* with other plant species. *Environmental Pollution* 104(1): 41-52.
- Wierzbicka M**, 1999b. The effect of lead on the cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* L. *Protoplasma* 207(3): 186-194.
- Wierzbicka M; Obidzinska J**, 1998. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. *Plant Science* 137(2): 155-171.
- Wozny A; Schneider J; Gwozdz EA**, 1995. The effects of lead and kinetin on greening barley leaves. *Biologia Plantarum* 37(4): 541-552.
- Xing T; Higgins VJ; Blumwald E**, 1997. Race-specific elicitors of *Cladosporium fulvum* Promote translocation of cytosolic components of NADPH-oxidase to the plasma membrane of tomato cells. *Plant Cell* 9(2): 249-259.
- Xiong Z ; Zhao J; Li M**, 2006. Lead toxicity in *Brassica pekinensis* Rupr.: Effect on nitrate assimilation and growth." *Environmental Toxicology* 21(2): 147-153.
- Yadav S**, 2010. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *S Afr J Bot* 76(2):167-179.
- Yan ZZ; Ke L; Tam NFY**, 2010. Pb stress in seedlings of *Avicennia marina*, a common mangrove species in South China, with and without cotyledons. *Aquat Bot* 92(2):112- 118.
- Yoon J ; Cao X ; Zhou Q ; Ma LQ**, 2006. Accumulation of Pb, Cu and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *The Science of the Total Environment* 368: 456-464.
- Zhang PC ; Ryan JA**, 1998. Formation of pyromorphite in hydroxyapatite suspension under varing pH concentration. *Environmental Science and Technology* 32: 3318-3324.
- Zheljzakov VD; Craker LE; Xing B**, 2006. Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. *Environmental and Experimental Botany* 58(1-3): 9-16.

**Zheng N; Wang Q; Zheng D**, 2007. Health risk of Hg, Pb, Cd, Zn and Cu to the inhabitants around Huludao Zinc Plant in China via consumption of vegetables. *The Science of the Total Environment* 383(1-3): 81-89.

# **Annexes**

**Annexe n°1** : Composition de la solution nutritive.

Elément chimique	Quantité
N	20%
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	20%
K <sub>2</sub> O	20%
S	0.8%
MgO	0.4%
Fe EDTA	650 ppm
Mn	650 ppm
Mo	50 ppm
SO <sub>3</sub>	0.8%
Cu	60 ppm
Zn	300 ppm
Bore (B)	300 ppm

**Annexe n°2** : Analyse de la variance des paramètres biologiques étudiés.

- Longueur de la radicule.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	577,445	2	288,722	6,918	0,01008
VAR.FACTEUR 2	304,222	1	304,222	7,289	0,01863
VAR.INTER F1*2	48,111	2	24,056	0,576	0,58113
VAR.RESIDUELLE 1	500,833	12	41,736		

**PARAMETRE PHYSIOLOGIQUES**

**Application une**

- RWC

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	0,025	2	0,012	3,784	0,02839
VAR.FACTEUR 2	0,037	1	0,037	11,401	0,0015
VAR.INTER F1*2	0,006	2	0,003	0,874	0,42593
VAR.RESIDUELLE 1	0,175	54	0,003		

- Potentiel Osmotique

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	136976,8	2	68488,38	5,89	0,01644
VAR.FACTEUR 2	12853,38	1	12853,38	1,105	0,31498
VAR.INTER F1*2	41068,8	2	20534,4	1,766	0,21181
VAR.RESIDUELLE 1	139546	12	11628,83		

- Chlorophylle A

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	91,624	2	45,812	8,822	0,00056
VAR.FACTEUR 2	167,705	1	167,705	32,294	0
VAR.INTER F1*2	1,865	2	0,933	0,18	0,83746
VAR.RESIDUELLE 1	280,426	54	5,193		

- Chlorophylle B

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	3,391	2	1,695	0,289	0,75416
VAR.FACTEUR 2	4,245	1	4,245	0,723	0,40336
VAR.INTER F1*2	1,007	2	0,503	0,086	0,91745
VAR.RESIDUELLE 1	316,907	54	5,869		

- Chlorophylle A+B

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	129,255	2	64,628	20,935	0
VAR.FACTEUR 2	225,308	1	225,308	72,984	0
VAR.INTER F1*2	4,871	2	2,435	0,789	0,46317
VAR.RESIDUELLE 1	166,703	54	3,087		

- Caroténoïdes

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	139,727	59	2,368		
VAR.FACTEUR 1	6,709	2	3,355	1,742	0,18297
VAR.FACTEUR 2	27,791	1	27,791	14,43	0,00046
VAR.INTER F1*2	1,225	2	0,613	0,318	0,73333
VAR.RESIDUELLE 1	104,002	54	1,926		

- Sucre solubles

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	14429,82	2	7214,91	6,257	0,01374
VAR.FACTEUR 2	288	1	288	0,25	0,63067
VAR.INTER F1*2	1863,695	2	931,848	0,808	0,47173
VAR.RESIDUELLE 1	13838,2	12	1153,184		

- Protéines B

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	403,334	2	201,667	318,469	0
VAR.FACTEUR 2	114,592	1	114,592	180,962	0
VAR.INTER F1*2	42,418	2	21,209	33,493	0,00002
VAR.RESIDUELLE 1	7,599	12	0,633		

- Proline

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	33997,59	2	16998,8	5,888	0,01646
VAR.FACTEUR 2	16896,2	1	16896,2	5,852	0,0311
VAR.INTER F1*2	2838,34	2	1419,17	0,492	0,62796
VAR.RESIDUELLE 1	34647,09	12	2887,258		

- Poids sec de la partie racinaire

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	16,661	2	8,33	6,852	0,0045
VAR.FACTEUR 2	7,008	1	7,008	5,764	0,02333
VAR.INTER F1*2	1,861	2	0,93	0,765	0,48
VAR.RESIDUELLE 1	29,18	24	1,216		

- Poids sec de la partie aérienne

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	307,282	2	153,641	17,655	0,00003
VAR.FACTEUR 2	66,305	1	66,305	7,619	0,01054
VAR.INTER F1*2	64,643	2	32,322	3,714	0,03856
VAR.RESIDUELLE 1	208,864	24	8,703		

**Application deux**

- RWC

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	0,071	2	0,035	14,47	0,0007
VAR.FACTEUR 2	0,03	1	0,03	12,279	0,00434
VAR.INTER F1*2	0,027	2	0,014	5,594	0,01908
VAR.RESIDUELLE 1	0,029	12	0,002		

- Potentiel Osmotique

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	113625,3	2	56812,66	42,361	0,00001
VAR.FACTEUR 2	424734,7	1	424734,7	316,691	0
VAR.INTER F1*2	174872,5	2	87436,25	65,194	0
VAR.RESIDUELLE 1	16094	12	1341,167		

- Chlorophylle A

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	114,8	2	57,4	5,838	0,01687
VAR.FACTEUR 2	37,422	1	37,422	3,806	0,07223
VAR.INTER F1*2	2,576	2	1,288	0,131	0,87836
VAR.RESIDUELLE 1	117,995	12	9,833		

- Chlorophylle B

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	13,795	2	6,897	4,84	0,02844
VAR.FACTEUR 2	3,858	1	3,858	2,707	0,12274
VAR.INTER F1*2	0,06	2	0,03	0,021	0,98018
VAR.RESIDUELLE 1	17,1	12	1,425		

- Chlorophylle A+B

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	207,544	2	103,772	5,673	0,01833
VAR.FACTEUR 2	65,311	1	65,311	3,57	0,08047
VAR.INTER F1*2	3,315	2	1,658	0,091	0,91347
VAR.RESIDUELLE 1	219,503	12	18,292		

- Caroténoïdes

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	5,357	2	2,678	2,95	0,08964
VAR.FACTEUR 2	2,33	1	2,33	2,566	0,13209
VAR.INTER F1*2	0,159	2	0,08	0,088	0,91609
VAR.RESIDUELLE 1	10,895	12	0,908		

- Sucres S

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	1837,395	2	918,697	1,124	0,35801
VAR.FACTEUR 2	11150,21	1	11150,21	13,648	0,0031
VAR.INTER F1*2	180,798	2	90,399	0,111	0,89577
VAR.RESIDUELLE 1	9803,915	12	816,993		

- Protéines B

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	466,815	2	233,407	409,171	0
VAR.FACTEUR 2	210,876	1	210,876	369,673	0
VAR.INTER F1*2	2,938	2	1,469	2,576	0,11604
VAR.RESIDUELLE 1	6,845	12	0,57		

- Proline

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	35962,39	2	17981,2	12,885	0,00111
VAR.FACTEUR 2	6964,922	1	6964,922	4,991	0,04351
VAR.INTER F1*2	7066	2	3533	2,532	0,11969
VAR.RESIDUELLE 1	16745,68	12	1395,473		

- Poids sec de la partie racinaire

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	16,358	2	8,179	7,124	0,00381
VAR.FACTEUR 2	7,803	1	7,803	6,796	0,01485
VAR.INTER F1*2	2,166	2	1,083	0,943	0,4056
VAR.RESIDUELLE 1	27,556	24	1,148		

- Poids sec de la partie aérienne

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	386,798	2	193,399	26,098	0
VAR.FACTEUR 2	82,668	1	82,668	11,156	0,00279
VAR.INTER F1*2	88,794	2	44,397	5,991	0,00778
VAR.RESIDUELLE 1	177,852	24	7,411		

**PARAMETRE MORPHOLOGIQUE Application une**

- Surface Foliaire

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	2758,784	2	1379,392	8,549	0,00068
VAR.FACTEUR 2	1,549	1	1,549	0,01	0,91922
VAR.INTER F1*2	1075,509	2	537,754	3,333	0,04216
VAR.RESIDUELLE 1	8713,124	54	161,354		

- Nombre de feuilles

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	153,867	2	76,933	6,341	0,00621
VAR.FACTEUR 2	218,7	1	218,7	18,025	0,00033
VAR.INTER F1*2	34,4	2	17,2	1,418	0,26128
VAR.RESIDUELLE 1	291,2	24	12,133		

- Nombre de gousses

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	55,267	2	27,633	2,679	0,08753
VAR.FACTEUR 2	56,033	1	56,033	5,431	0,02716
VAR.INTER F1*2	5,267	2	2,633	0,255	0,7797
VAR.RESIDUELLE 1	247,6	24	10,317		

- Hauteur de tige

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	5123,752	2	2561,876	19,492	0,00001
VAR.FACTEUR 2	11623,01	1	11623,01	88,433	0
VAR.INTER F1*2	1020,715	2	510,357	3,883	0,03394
VAR.RESIDUELLE 1	3154,4	24	131,433		

- Longueur racinaire

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	1016,467	2	508,233	13,829	0,00012
VAR.FACTEUR 2	93,633	1	93,633	2,548	0,11985
VAR.INTER F1*2	11,267	2	5,633	0,153	0,85925
VAR.RESIDUELLE 1	882	24	36,75		

- Volume racinaire

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	14011,66	2	7005,832	17,662	0,00003
VAR.FACTEUR 2	2999,996	1	2999,996	7,563	0,01078
VAR.INTER F1*2	465,004	2	232,502	0,586	0,56916
VAR.RESIDUELLE 1	9520	24	396,667		

**Application deux** Nombre de feuilles

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	222,067	2	111,033	15,141	0,00007
VAR.FACTEUR 2	182,533	1	182,533	24,891	0,00006
VAR.INTER F1*2	31,267	2	15,633	2,132	0,13872
VAR.RESIDUELLE 1	176	24	7,333		

- Nombre de gousses

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	63,267	2	31,633	5,582	0,01019
VAR.FACTEUR 2	58,8	1	58,8	10,376	0,00368
VAR.INTER F1*2	1,4	2	0,7	0,124	0,88428
VAR.RESIDUELLE 1	136	24	5,667		

- Hauteur de tige

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	5584,65	2	2792,325	35,616	0
VAR.FACTEUR 2	10083,33	1	10083,33	128,614	0
VAR.INTER F1*2	964,717	2	482,358	6,153	0,007
VAR.RESIDUELLE 1	1881,6	24	78,4		



- Longueur racinaire

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	994,067	2	497,033	19,422	0,00001
VAR.FACTEUR 2	83,333	1	83,333	3,256	0,0804
VAR.INTER F1*2	20,867	2	10,433	0,408	0,67463
VAR.RESIDUELLE 1	614,2	24	25,592		

- Volume racinaire

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	12451,67	2	6225,834	24,657	0
VAR.FACTEUR 2	2803,336	1	2803,336	11,102	0,00284
VAR.INTER F1*2	431,664	2	215,832	0,855	0,44093
VAR.RESIDUELLE 1	6060	24	252,5		

**PARAMETRES ANATOMIQUES**

**Application une**

- Nombre des faisceaux cribro-vasculaire

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	0,75	1	0,75	0,474	0,52187
VAR.FACTEUR 2	2,667	2	1,333	0,842	0,47851
VAR.INTER F1*2	6	2	3	1,895	0,22998
VAR.RESIDUELLE 1	9,5	6	1,583		

- Distance entre les faisceaux cribro-vasculaires

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	159353,9	1	159353,9	12,906	0,00125
VAR.FACTEUR 2	156961,4	2	78480,69	6,356	0,00508
VAR.INTER F1*2	45434,38	2	22717,19	1,84	0,17453
VAR.RESIDUELLE 1	370417,3	30	12347,24		

- Diamètres du méta-xylème

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	1923,375	1	1923,375	26,949	0,00002
VAR.FACTEUR 2	527,897	2	263,948	3,698	0,03592
VAR.INTER F1*2	553,569	2	276,785	3,878	0,03115
VAR.RESIDUELLE 1	2141,131	30	71,371		

- Epaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	22,182	1	22,182	1,974	0,18292
VAR.FACTEUR 2	5,832	2	2,916	0,259	0,77811
VAR.INTER F1*2	59,656	2	29,828	2,654	0,10982
VAR.RESIDUELLE 1	134,866	12	11,239		

**Application deux**

- Nombre des faisceaux cribro-vasculaire

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	2,083	1	2,083	0,862	0,39189
VAR.FACTEUR 2	0,5	2	0,25	0,103	0,90273
VAR.INTER F1*2	1,167	2	0,583	0,241	0,79401
VAR.RESIDUELLE 1	14,5	6	2,417		

- Distance entre les faisceaux cribro-vasculaires

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	184874,8	1	184874,8	9,559	0,00429
VAR.FACTEUR 2	31896,88	2	15948,44	0,825	0,45138
VAR.INTER F1*2	38175,31	2	19087,66	0,987	0,38641
VAR.RESIDUELLE 1	580232,7	30	19341,09		

- Diamètres du méta-xylème

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	233,197	1	233,197	2,463	0,1232
VAR.FACTEUR 2	298,871	2	149,435	1,579	0,22164
VAR.INTER F1*2	22,833	2	11,417	0,121	0,88672
VAR.RESIDUELLE 1	2839,887	30	94,663		

- Epaisseur de la paroi externe des cellules épidermiques

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.FACTEUR 1	9,1	1	9,1	1,913	0,18942
VAR.FACTEUR 2	102,399	2	51,2	10,764	0,0022
VAR.INTER F1*2	44,763	2	22,381	4,706	0,03064
VAR.RESIDUELLE 1	57,076	12	4,756		

**Annexe n°3** : Corrélation entre les paramètres biologiques et la dose de plomb (Corrélation de Pearson).

**PARAMETRES BIOCHIMIQUES**

**Application 1**

	Pb.Dose	PR9-6	SS9-6	PBTN.B6	Chloro_A	Chloro_B	Chloro_A+B	CRTN
Pb.Dose	1	0,55	<b>0,69</b>	<b>-0,84</b>	<b>-0,34</b>	-0,10	<b>-0,42</b>	-0,19

**Application 2**

	Pb.Dose	PR9-6	SS9-6	PBTN.B6	Chloro_A	Chloro_B	Chloro_A+B	CRTN
Pb.Dose	1	0,65	0,28	<b>-0,81</b>	<b>-0,62</b>	<b>-0,57</b>	<b>-0,61</b>	<b>-0,50</b>

**PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES**

**Application 1**

	Pb.Dose	PO9-6	RWC1-6	PSPR	PSPA
Pb.Dose	1,00	<b>0,64</b>	<b>-0,27</b>	<b>-0,55</b>	<b>-0,69</b>

**Application 2**

	Pb.Dose	PO9-6	RWC1-6	PSPR	PSPA
Pb.Dose	1	0,38	<b>-0,65</b>	<b>-0,55</b>	<b>-0,72</b>

**PARAMETRES MORPHOLOGIQUES**

**Application 1**

	Pb.Dose	SF1-6	D. Nbr F	NG	D.HT	LR	VR
Pb.Dose	1	<b>-0,44</b>	<b>-0,46</b>	<b>-0,39</b>	<b>-0,49</b>	<b>-0,69</b>	<b>-0,67</b>

**Application 2**

	Pb.Dose	SF1-6	D. Nbr F	NG	D.HT	LR	VR
Pb.Dose	1		<b>-0,60</b>	<b>-0,49</b>	<b>-0,54</b>	<b>-0,75</b>	<b>-0,72</b>

**PARAMETRES ANATOMIQUES**

**Application 1**

	Nbr des FCV	Dist_FCV	Diam_MX	Ep E Cel_Epiderm1
Pb.Dose	0,00	-0,27	0,24	-0,15

**Application 2**

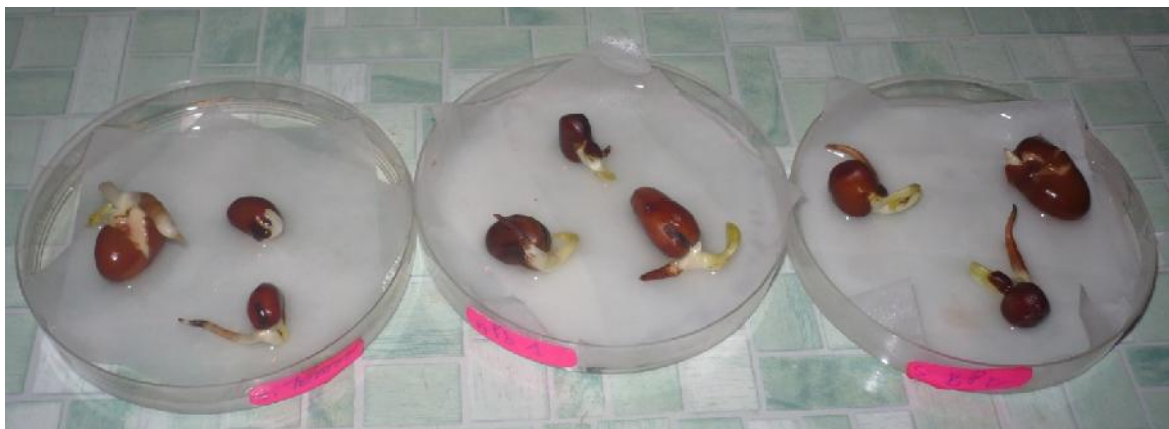
	Nbr des FCV	Dist_FCV	Diam_MX	Ep E Cel_Epiderm1
Pb.Dose	-0,08	0,13	0,25	<b>-0,61</b>

**PARAMETRES DE LA GERMINATION**

	Dose de Pb
longuer de la rdicule	<b>-0,63</b>

*En gras, valeurs significatives (hors diagonale) au seuil  $\alpha=0,05$  (test bilatéral).*

**Annexe n°4** : Photos des graines soumises aux différentes doses de plomb (mesure de la longueur de la radicule).



En haut : le génotype Sidi Aïch, en bas : le génotype Super Aguadulce.

## RESUME

Le plomb est l'un des métaux lourds les plus toxiques, il cause des dégâts considérables au niveau des plantes. Ce travail consiste à suivre le comportement de la fève (*Vicia faba* L.) face au stress de plomb. Cette plante est utilisée comme modèle dans les études écotoxicologiques grâce à sa biomasse importante et à son cycle végétatif court.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'influence du plomb sous forme de nitrates  $Pb(NO_3)_2$  à des doses de 0, 500 et 1000 ppm, sur le comportement morpho-physiologique, anatomique et sur les mécanismes intervenants dans le processus de la germination des grains des plants issus de deux variétés **Sidi Aïch** et **Super Aguadulce**. La plante a été stressée à des doses de plomb de 0, 500 et 1000 ppm. Ce stress a été appliqué deux fois durant le cycle végétatif de la plante.

Les résultats trouvés révèlent que la germination des graines se trouve fortement inhibée et les mécanismes intervenants dans ce processus s'avèrent très modifiés suite à ce stress. La présence du plomb diminue l'activité photosynthétique et la production des paramètres de la biomasse accompagnée d'une réduction de la teneur en protéines au niveau des grains de la culture. Ces résultats montrent également une accumulation des sucres solubles et de la proline, exprimant un mécanisme de régulation du potentiel interne face à l'action du stress métallique. L'effet du stress de plomb et la nature du génotype testé est significatif sur le comportement anatomique de la plante.

Ces résultats suggèrent que la présence du plomb modifie le fonctionnement et le développement normal des plantes par des perturbations sur le plant morphologique, physiologique, biochimiques et anatomique.

**MOTS CLES** : Plomb, génotype, stress, *Vicia faba*, Sidi Aïch, Super Aguadulce, paramètres morphologiques, paramètre physiologiques, paramètre anatomiques.

## SUMMARY

Lead is one of the most toxic heavy metals, it causes considerable damage in plants. This work is to follow the behavior of the bean (*Vicia faba* L.) cope with stress of lead. This plant is used as a model in ecotoxicological studies due to its large amount of biomass and its short growing season.

The objective of our work is to study the influence of lead as nitrates  $Pb(NO_3)_2$  at doses of 0, 500 and 1000 ppm, on the behavior morpho-physiological, anatomical and on mechanisms intervenants volved in the process of seed germination of plants from both varieties **Sidi Aich** and **Super Aguadulce**. The plant has been stressed at doses of lead of 0, 500 and 1000 ppm. This stress was applied twice during the growing cycle of the plant.

The results indicate that seed germination is strongly inhibited and the mechanisms intrvenants in this process are changeable due to this stress. The presence of lead decreases the photosynthetic activity and production of biomass parameters accompanied by a reduction of the protein content in the grains of the culture. These results also show an accumulation of soluble sugars and proline, expressing a mechanism for regulating of the potentiel internal face of the action of metal stress. The effect of lead stress and of the plant genotype is significant on the anatomic parameter of the plant.

These results suggest that the presence of lead alters the normal functioning and development of plants by disturbances on the morphological, physiological, biochemical and anatomical behavior of the plant.

**KEYWORDS**: Lead, genotype, stress, *Vicia faba*, physiological behavior, morphological behavior, anatomical behavior, Sidi Aich, Super Aguadulce.

(*Vicia faba* L.)

Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

. . 1000 500 0

. . 1000 500 0

: