



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem



جامعة عبد الحميد بن باديس

مستغانم

كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة و الحياة

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

Département de Biologie

Option

Phytotechnologie appliquée aux sols pollués

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

*Effet du plomb sur quelques paramètres biométriques
de la fève (Vicia faba L.)*

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

Présenté par

BENHAMOU Asma

et

BAKIR Amina

Devant le jury

Nom et prénom	Grade	Qualité	Appartenance administrative
ARBAOUI Mohamed	MAA	Président	Centre universitaire de Relizane
BOUZIANI El Hadj	MAA	Encadreur	Université des frères Mentouri Constantine
BENOUIS Slimane	MAA	Examinateur	Centre de recherche scientifique et technique sur les régions Arides de Biskra

Année universitaire : 2015/2016

-* Sommaire *-

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des photos	
Liste des tableaux	
Introduction	-1-
Partie I : Revues Bibliographiques	
I. Les métaux lourds	- 3 -
I.1. Généralité sur les métaux lourds	- 3 -
I.2. Définition	- 3 -
I.3. Origines des métaux lourds.....	- 5 -
I.3.1. Contaminations des sols.....	- 5 -
I.3.2. Contaminations de l'air.....	- 6 -
I.3.3. Contaminations de l'eau	- 6 -
II. Le plomb.....	- 7 -
II.1. Généralités sur le plomb	- 7 -
II.2. Propriétés du plomb.....	- 8 -
II. 3. Isotopes de plomb	- 9 -
II.4. Plombs d'origine naturelle	- 10 -
II.5. Sources anthropiques	- 11 -
II.5.1. Histoire de l'utilisation du plomb	- 11 -
II.5.2. Différentes utilisations du plomb.....	- 11 -
II.5.3. Cycle biogéochimique	- 13 -
II.6. Utilisation du plomb	- 13 -
III. Le plomb dans le sol.....	- 14 -
III.1. Généralités et concepts de base.....	- 14 -
III.2. Associations avec les différents constituants du sol.....	- 14 -
III.2.1. Interactions avec les oxydes de fer et de manganèse.....	- 15 -
III.2.2. Interactions avec les argiles.....	- 15 -
III.2.3. Interactions avec les matières organiques du sol (MOS).....	- 15 -
III.3. Mobilités du plomb	- 16 -
III.4. Le plomb dans la plante.....	- 17 -
III.4.1. Notion de phytodisponibilité	- 17 -
III.4.2. Absorption.....	- 17 -
III.4.3. Transferts du plomb du sol vers les racines.....	- 18 -
III.4.4. Translocations du plomb des racines vers les parties aériennes	- 19 -

III.4.5. Toxicités	- 19 -
III.5. Mécanismes de tolérance chez les végétaux	- 22 -
IV. Le modèle biologique <i>Vicia faba</i>	- 24 -
IV.1. Classification.....	- 24 -
IV.2. Aspect et particularités	- 24 -
IV. 3. Culture.....	- 25 -
IV.4. Caryotype et cycle cellulaire	- 25 -
IV. 5. Intérêts en écotoxicologie.....	- 26 -

Partie II: Matériels & Méthodes

1. Objectif du travail :	- 27 -
2. Préparation du substrat de culture:	- 27 -
3. Protocole expérimental.....	- 28 -
4. Application du stress.	- 29 -
5. Matériels végétal utilisé.	- 29 -
5.1. Germination des graines	- 30 -
5.2. Le repiquage des graines.....	- 30 -
6. Paramètres morphologiques	- 31 -
6.1. Paramètres morphologiques aériens	- 31 -
6.2. Paramètres morphologiques sous-terrains	- 31 -
7. Analyse statistique.....	- 31 -

Partie III: Résultats & Discussions

I. paramètres sous-terrains.....	- 32 -
I.1. Nombre des nodosités	- 32 -
I.2. Volume racinaire	- 33 -
II. Paramètres aériens	- 35 -
II.1. Hauteur de la Tige	- 35 -
II.2. Nombre des étages Foliaires	- 36 -
II.3. Nombre des Folioles	- 38 -
I.4. Surface foliaire.....	- 39 -
III. Discussions.....	- 41 -
Conclusion.....	- 43 -

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Les métaux lourds constituent un groupe d'éléments très différent. Tous ces éléments peuvent se présenter sous un grand nombre de formes de composés différents. Le comportement de ces éléments et les risques de liées à leurs présence dans le milieu dépendent fortement des conditions de l'environnement. Certains métaux sont des éléments nutritifs essentiels, d'autres connus comme étant toxiques.

Le plomb (de symbole Pb et de numéro atomique 82) est un métal gris-bleu, ductile, dense, résistant à la corrosion avec un faible pouvoir conducteur. C'est pour ses nombreuses propriétés physico-chimiques, que ce métal a été largement utilisé par l'homme. De nos jours, le plomb continue à être utilisé dans de nombreux processus industriels (Sharma et Dubey, 2005). Ceci a conduit à une augmentation significative de la concentration de ce métal dans tous les compartiments environnementaux biotiques et abiotiques

Les sols contaminés par le plomb sont très nombreux car cet élément a été utilisé dans des secteurs industriels variés depuis des siècles : canalisations anciennes de distribution des eaux, extraction minière, carburants automobiles, peintures, installations de transformation ou recyclage des déchets, accumulateurs, soudures, sertissage, protection contre les rayonnements, tir et chasse, etc... La présence de plomb dans les déchets en particulier, peut entraîner une contamination des sols et la réduction des possibilités de valorisation et de recyclage des déchets (compostage de déchets, épandage des boues, valorisation des mâchefers en sortie d'incinération...) (AGHTM, 1996; Miquel, 2001). Ce phénomène pose un problème environnemental, car le plomb est classé parmi les métaux potentiellement toxiques (anémie, hypertension artérielle, saturnisme, etc.) pour l'homme (Pichard, 2002) et cet élément persistant s'accumule dans les sols (Baize, 1997). Une fois le sol contaminé, le plomb peut être transféré aux écosystèmes et donc représenter un danger pour la santé humaine.

-La mobilité du plomb dans le sol est généralement considérée comme faible, mais elle dépend des conditions bio-physico-chimiques du milieu: un sol acide et la présence de ligands organiques peuvent favoriser son transfert vers les plantes.

En raison de la complexité du système sol-plante des interrogations demeurent encore concernant la compréhension des mécanismes qui gouvernent la mobilité du plomb dans les sols et son absorption par les plantes (Miquel, 2001). Le plomb accumulé dans le sol de surface peut donc être prélevé par les plantes, et par conséquent contaminer l'homme via la chaîne alimentaire, ce qui constitue un problème sanitaire majeur.

Introduction

En raison de sa toxicité, les rejets de plomb sont contrôlés de nos jours et les principales utilisations (essence et peinture) sont interdites dans la majorité des pays du monde (ce qui n'est pas le cas pour l'Algérie). Mais le plomb est toujours utilisé pour la fabrication des batteries et de plus cet élément persistant s'est accumulé dans les horizons de surface des sols en raison de la forte affinité du Pb pour les matières organiques (Harter & Naidu, 1995; De Matos et al., 2001). Dans les sols, le plomb peut induire une dégradation de l'activité biologique (Dumat et al., 2006).

Le travail présenté consiste en l'estimation de l'effet procuré par le plomb sur comportement de la fève. Et englobe l'évaluation de la réponse de la fève face au stress métallique induit par le plomb. Ces réactions s'identifient par des modifications comportementales dans l'élaboration de caractère d'ordre morphologique.

Chapitre I :

Partie Bibliographiques

I. Les métaux lourds

I.1. Généralité sur les métaux lourds

Les métaux lourds constituent un groupe d'éléments très différent. Tous ces éléments peuvent se présenter sous un grand nombre de formes de composés différents. Le comportement et les risques dépendent fortement des conditions de l'environnement. Certains métaux sont des éléments nutritifs essentiels, d'autres connus comme étant toxiques. Un aspect particulier est que tous les métaux lourds sont naturellement présents dans le sol. Ce cahier entend présenter des informations d'ordre général sur les propriétés de métaux lourds, leur comportement dans le sol.

Des métaux lourds tels que le cuivre, le nickel, le chrome et le zinc sont utilisés à grande échelle dans toutes sortes d'objets courants et de matériaux de construction, sans que cela ne représente de risque pour l'utilisateur. Certains métaux sont essentiels pour la santé et sont ajoutés à des suppléments de vitamines. Une carence entraîne des symptômes de maladie. D'autre part, il existe des exemples d'effets graves sur la santé et même d'intoxication entraînant la mort. L'intoxication par le plomb était probablement courante chez les Romains, qui buvaient dans des coupes en plomb. Au Japon, des décès ont été constatés dans les années cinquante et soixante suite à la consommation de poissons contenant des concentrations élevées de mercure (maladie de Minamata). En Campine, les teneurs en cadmium dans certaines zones sont tellement élevées que la consommation de légumes provenant de jardins populaires peut entraîner des risques pour la santé.

Il est donc très important d'avoir une vision nuancée de la problématique des métaux lourds. Il n'est pas correct de voir dans chaque contamination par des métaux lourds un risque de toxicité. (Jaap, 2010).

I.2. Définition

Les définitions des métaux lourds sont multiples et dépendent du contexte dans lequel on se situe ainsi que de l'objectif de l'étude à réaliser.

D'un point de vue purement scientifique et technique, les métaux lourds peuvent être également définis comme :

- tout métal ayant une densité supérieure à 5.

-tout métal ayant un numéro atomique élevé, en général supérieur à celui du Sodium ($Z=11$).

-tout métal pouvant être toxique pour les systèmes biologiques.

Certains chercheurs utilisent des définitions plus spécifiques encore. Le géologue, par exemple, considérera comme métal lourd tout métal réagissant avec la pyrimidine (C_6H_5N).

Dans le traitement des déchets liquides, les métaux lourds indésirables auxquels on s'intéresse principalement sont : l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le mercure (Hg), le nickel (Ni), le plomb (Pb), le sélénium (Se), le zinc (Zn).

Dans les sciences environnementales, les métaux lourds associés aux notions de pollution et de toxicité sont généralement : l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le cuivre (Cu), le mercure (Hg), le manganèse (Mn), le nickel (Ni), le plomb (Pb), l'étain (Sn), le zinc (Zn).

Enfin, dans l'industrie en général, on considère comme métal lourd tout métal de densité supérieure à 5, de numéro atomique élevé et présentant un danger pour l'environnement et/ou pour l'homme.

Dès lors que l'on aborde la problématique des métaux lourds, il faut avoir présent à l'esprit que ces éléments se retrouvent dans notre environnement quotidien sous des formes chimiques très diverses, pouvant chacune conférer une propriété particulière (solubilité, toxicité...) au métal étudié. En effet, à côté des formes minérales les plus simples (exemple : Pb^{2+}), les métaux lourds peuvent aussi exister sous forme organique, c'est-à-dire combinés à un atome de carbone (exemple : le plomb tétraméthyl des essences) mais aussi sous forme de complexes (exemple : le salicylate de plomb, provenant de la complexation du plomb avec une substance humique des sols) ou encore sous forme de chélates. Toutes ces formes, même si elles sont présentes en quantité minime, et quelles que soient les transformations qu'elles subissent lors de leur cheminement dans l'environnement, doivent être prises en compte lorsque l'on étudie les métaux lourds et ceci confère à ce sujet toute sa complexité. L'étude de toutes ses formes de métaux lourds constitue une discipline à part entière, connue actuellement sous le terme d'étude de la spéciation des métaux lourds.

Les éléments traces, appelés abusivement métaux lourds, comprennent non seulement les métaux présents à l'état de trace (cadmium, cuivre, mercure, plomb, etc.), mais aussi des éléments non-métalliques, comme l'arsenic, le fluor... La plupart d'entre eux, les oligo-éléments, sont nécessaires à la vie en faible dose. Ils peuvent cependant se révéler très nocifs

en quantités trop importantes. C'est le cas du fer (Fe), du cuivre (Cu), du zinc (Zn), du nickel (Ni), du cobalt (Co), du vanadium (V), du sélénium (Se), du molybdène (Mo), du manganèse (Mn), du chrome (Cr), de l'arsenic (As) et du titane (Ti). D'autres ne sont pas nécessaires à la vie et sont préjudiciables dans tous les cas, comme le plomb (Pb), le cadmium (Cd) et l'antimoine (Sb) (Benedetto M ; 1997).

I.3. Origines des métaux lourds

Une quantité importante de métaux lourds est introduite dans l'environnement par l'intermédiaire de sources naturelles et humaines. Cette contamination a plusieurs origines telles que la combustion de fossiles, les gaz d'échappement des véhicules, l'incinération, l'activité minière, l'agriculture et les déchets liquides et solides. Mais elle peut également être d'origine naturelle via les volcans, l'activité des sources thermales, l'érosion, l'infiltration, etc. Le tableau (1) montre le rapport entre le flux lié à l'activité humaine et le flux naturel. D'autre part, le cadmium, l'arsenic, et surtout le mercure et le plomb sont introduits dans l'environnement, de façon quasi exclusive par l'homme.

Tableau 01 : Le rapport entre le flux lié à l'activité humaine et le flux naturel. (MacLaughlin MJ, 2000)

Elément	Flux lié à l'homme / Flux naturel (%)
Chrome	1,61
Cadmium	1,897
Arsenic	2,786
Mercure	27,500
Plomb	34,583

I.3.1. Contaminations des sols

Les surfaces concernées par la pollution métallique sont estimées. Les métaux peuvent être soit fixés dans les roches et les sédiments, soit mobiles.

Dans le premier cas, les quantités disponibles sont infimes et ils n'ont aucune signification sur l'environnement. Mais lorsque les conditions changent de telle manière que les métaux redeviennent solubles, l'augmentation de la concentration devient alors une

menace directe pour l'environnement du fait de l'augmentation de leur disponibilité pour les plantes. En outre, les pluies acides augmentent la mobilité des métaux dans le sol et causent donc une augmentation de leur concentration dans les produits agricoles.

1.3.2. Contaminations de l'air

Les principales sources de métaux dans l'air sont des sources fixes. De nombreux éléments se trouvent à l'état de traces dans des particules atmosphériques provenant de combustions à haute température, de fusions métallurgiques, des incinérateurs municipaux, des véhicules, etc. Les effets biologiques, physiques et chimiques de ces particules sont fonction de la taille des particules, de leur concentration et de leur composition, le paramètre le plus effectif sur l'environnement étant la taille de ces particules. Dans l'air ambiant, on trouve de nombreux éléments, comme le plomb, le cadmium, le zinc, le cuivre, etc., dont la concentration est d'autant plus élevée que les particules sont fines.

1.3.3. Contaminations de l'eau

Il est assez difficile de prévoir l'évolution des métaux dans l'environnement, car ils peuvent subir un grand nombre de transformations (oxydation, réduction, complexation, etc.), et car cette évolution dépend fortement du milieu. En effet, la migration des métaux lourds vers la nappe phréatique est fonction de nombreux paramètres:

- la forme chimique initiale du métal.
- la perméabilité du sol et du sous-sol.
- la porosité du sol.
- **le PH**: dans un milieu acide, les métaux risquent de se solubiliser, alors que dans un milieu alcalin, ils peuvent former des hydroxydes métalliques, - l'activité biologique: certains micro-organismes ont la capacité d'ingérer des métaux, alors que d'autres les solubilisent par acidogènes.
- **le potentiel redox du sol**.
- la composition minéralogique du sol: il peut y avoir formation de composés.
- la teneur en matières organiques du sol:(complexation des métaux par les substances humiques). Les principales sources de contamination de l'eau sont les suivantes: les eaux usées domestiques et industrielles, la production agricole, les polluants atmosphériques, les anciennes décharges, l'utilisation de substances dangereuses pour l'eau, la navigation, etc. (Benedetto M ; 1997).

II. Le plomb

II.1. Généralités sur le plomb

Le plomb (de symbole Pb et de numéro atomique 82) est un métal gris-bleu, ductile, dense, résistant à la corrosion avec un faible pouvoir conducteur. C'est pour ses nombreuses propriétés physico-chimiques, que ce métal a été largement utilisé par l'homme depuis les Égyptiens. De nos jours, le plomb continue à être utilisé dans de nombreux processus industriels (Sharma et Dubey, 2005). Ceci a conduit à une augmentation significative de la concentration de ce métal dans tous les compartiments environnementaux biotiques et abiotiques.

Les principales sources d'émission de plomb dans l'environnement ont été ou sont encore, l'utilisation des carburants d'origine fossile complétés en plomb, l'exploitation des mines, les anciennes peintures à base de plomb, la plomberie, les munitions, les boucliers de rayons X, le brasage, les conteneurs pour les liquides corrosifs. Les émissions de plomb dans le sol et l'eau peuvent également se produire suite à l'épandage des boues d'épuration ou lors du rejet d'effluents agricoles traités. Selon l'USGS, la production en 2009 de plomb extrait des mines en Chine, Australie et États-Unis, était respectivement de 1690, 516 et 400 millions de tonnes.

Le plomb est le 36ème élément le plus abondant dans l'écorce terrestre (Arias et al. 2010.) avec une concentration moyenne de 13 mg kg⁻¹. Dans la croûte terrestre, le plomb s'observe le plus souvent sous la forme de sulfures de plomb dans le minerai (la galène), produit final de la désintégration de trois éléments naturellement radioactifs: l'uranium, le thorium et l'actinium. Les teneurs naturelles de Pb dans les sols sont généralement inférieures à 50 mg.kg⁻¹. En raison d'une relativement faible mobilité dans les sols, le plomb est généralement peu soluble et disponible pour les plantes. Il est donc nécessaire de déterminer le comportement biogéochimique du plomb dans l'environnement.

Le plomb peut toutefois se retrouver dans les sols sous des formes plus mobiles et disponibles comme l'ion libre Pb²⁺, complexée par des ligands organiques ou absorbée à la surface de particules colloïdales. Cette fraction mobile du plomb peut être absorbée par les organismes vivants et contaminer la chaîne alimentaire.

L'absorption du plomb par les plantes est influencée par de nombreux facteurs liés au sol tel que la composition, la granulométrie, mais également des facteurs liés à la plante comme la production d'exsudats racinaires. L'une des principales voies de pénétration du plomb dans les plantes est le franchissement des membranes cellulaires via des canaux

ioniques à forte affinité pour le calcium (Pourrut, 2008). Une fois dans les racines, le plomb est généralement peu transféré vers les parties aériennes des plantes, mais a tendance à être piégé dans les parois ou les cellules racinaires. Excepté dans le cas des hyper accumulateurs, environ 95 % du plomb absorbés seraient présents dans les racines.

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. L'accumulation excessive de plomb 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). La présence de plombs dans des plantes induit également la production d'espèces réactives de l'oxygène qui perturbent le statut redox des cellules, causant un stress oxydant (Pourrut, 2008). Cette fonctionnalité est connue pour être une cause majeure de la toxicité des métaux lourds. Cependant, les mécanismes d'origine de cette toxicité de plomb ne sont pas encore connus.

En termes de santé humaine, les empoisonnements au plomb ont jalonné l'histoire des civilisations. Dans le contexte des habitats vétustes et de la proximité des friches industrielles non contrôlées, les enfants peuvent être plus particulièrement touchés avec des cas de déficience mentale détectés chez les jeunes enfants. Le plomb a en conséquence été classé comme produit chimique préoccupant dans le cadre de la réglementation Européenne REACH (ce 1907 / 2006, d'enregistrement, d'évaluation, d'autorisation et de restriction des produits chimiques). Il a également été signalé en 2003 comme la 2ème substance la plus dangereuse (critères de fréquences d'apparition, toxicité et potentiel d'exposition de l'homme) par l'ATSDR (Agence pour les substances toxiques et du registre de la maladie).

Plusieurs travaux étudient le potentiel bio-toxique du plomb. La majorité de ces études concernent la teneur totale du métal. Pourtant, les effets potentiels des éléments toxiques dans l'environnement sont fortement influencés par leur spéciation au sens large : distribution physico-chimique et spéciation chimique. Le rôle de l'ion libre ou chélaté avec des molécules organiques solubles a en particulier été mis en avant dans plusieurs études (Shahid, 2010).

II.2. Propriétés du plomb

Du latin (*plumbum*), le plomb est un élément présent naturellement dans l'environnement. Le plomb appartient au groupe IVB de la classification périodique. Sa configuration électronique est (Xe) 4f¹⁴ 5d¹⁰ 6s² 6p² avec deux 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). Quelques propriétés physico-chimiques de l'élément plomb sont présentées dans le tableau.

Dans les milieux naturels, les espèces inorganiques du plomb incorporent cet élément sous le degré d'oxydation (+2). Le degré d'oxydation (+4) n'est représenté que dans des conditions très oxydantes, non rencontrées dans les sols ; il se retrouve majoritairement dans les composés organiques dont la source est principalement anthropique. La forme 0 (plomb natif) n'est quant à elle que rarement représentée car elle nécessite des conditions peu courantes dans un sol.

Tableau 02 : Propriétés physico - chimiques de l'élément de plomb (BRGM ; 2004)

Numéro atomique	82
Masse atomique (g.mol ⁻¹)	207,2
Point de fusion	327 C
Point d'ébullition	1740 C
Densité	11,35
Configuration électronique	(Xe) 4f14 5d10 6s2 6p2
Valences	0, +2, +4
Rayons ionique (A)	
Pb+2	0,94 à 1,49
Pb+4	0,78 à 0,94

II. 3. Isotopes de plomb

Le plomb possède 38 isotopes connus, de nombre de masses variantes de 178 à 215, ainsi que 46 isomères nucléaires. Quatre de ces isotopes, ²⁰⁴Pb, ²⁰⁶Pb, ²⁰⁷Pb et ²⁰⁸Pb, sont stables, ou du moins ont été observés stables jusqu'à présent, puisqu'ils sont tous soupçonnés de se désintégrer par désintégration α en isotopes du mercure correspondant, avec des demi-vies extrêmement longues. Le plomb 204 est entièrement un nucléide primordial et pas un nucléide radiogénique. Les isotopes plombs 206, plomb 207, et plomb 208 sont les produits finaux de trois chaînes de désintégration, respectivement la chaîne de l'uranium (ou du radium, 4n+2), de l'actinium (4n+3) et du thorium (4n+0). Chacun de ces isotopes est aussi à un certain point un nucléide primordial, produit par les supernovas.

Les quatre isotopes stables, ²⁰⁴Pb, ²⁰⁶Pb, ²⁰⁷Pb et ²⁰⁸Pb, sont présents dans la nature dans un ratio 1,4/24,1/22,1/52,4 et 5 radio-isotopes sont aussi présents à l'état de traces. La masse atomique standard du plomb est de 207,2(1) u.

Les isotopes sont parfois utilisés pour le traçage isotopique du plomb et lors d'analyses isotopiques destinées à étudier la cinétique environnementale de certains polluants dans l'environnement (ex : plomb de chasse après avoir été solubilisé dans le sang d'un animal atteint de saturnisme, plomb de retombées industrielles, ou plomb tétraéthyl de l'essence...)

II.4. Plombs d'origine naturelle

Le plomb est naturellement présent en moyenne à 0,002% dans la croûte terrestre (36^e élément de la croûte terrestre), généralement sous forme peu soluble. Des dérivés inorganiques sont présents dans les eaux, les sédiments, les sols, l'atmosphère et éventuellement en microtraces chez les organismes vivants. Les sols non contaminés contiendraient de 10 à 30 mg.kg⁻¹ (Baize, 1997). Le plomb peut se substituer à de nombreux éléments (potassium, sodium, calcium, strontium ou barium) et rentre dans la composition de 240 minéraux naturels identifiés. Les principaux minéraux porteurs de plomb sont présentés dans le Tableau 3 ci-dessous. Ce sont les sulfates, les carbonates, les oxydes et hydroxydes, les sulfures ou les phosphates. Pour des conditions physicochimiques fixées, la solubilité du plomb dépendra fortement de la nature du composé dans lequel le plomb est engagé.

Tableau 03 : Principaux minéraux et composés de plomb (BRGM, 2004).

Nom	Formule
Plomb	Pb
Galène	PbS
Anglésite	PbSO ₄
Boulangérite	Pb ₅ Sb ₄ S ₁₁
Franckéite	Pb ₅ Sn ₃ Sb ₂ S ₁₄
Cerusite	PbCO ₃
Hydrocerusite	(PbO) ₃ , (CO ₂) ₂ , H ₂ O
Phosgénite	PbCO ₃ , PbC ₁₂
Crocoïte	PbCrO ₄
Massicot	PbO
Minium	Pb ₃ O ₄
Dioxyde de plomb	PbO ₂
Hydroxyde de plomb	Pb(OH) ₂
Chlorure de plomb	PbCl ₂
Bromure de plomb	PbBr ₂
Pyromorphite	Pb ₅ (PO ₄) ₃ Cl
Hydroxypyromorphite	Pb ₅ (PO ₄) ₃ OH
Fluoropyromorphite	Pb ₅ (PO ₄) ₃ F
Arséniate de plomb	Pb ₃ (AsO ₄) ₂
Plumbogummite	PbAl ₃ (PO ₄) ₂ (OH) ₅ , H ₂ O
Raspite	PbWO ₄
Wulfénite	PbMoO ₄
Vanadinite	Pb ₅ (VO ₄) ₃ Cl

II.5. Sources anthropiques

II.5.1. Histoire de l'utilisation du plomb

Le plomb est un métal connu depuis plus de 5000 ans. En effet, par exemple en Egypte des composés de plomb étaient déjà utilisés lors de l'émaillage du travail de poterie, autour de 3000 ans av. JC. La métallurgie du plomb a donc démarré à cette époque. Sous l'Empire romain, le plomb était utilisé pour la fabrication de canalisations, la production de monnaie ou bien de la vaisselle, l'oxyde de plomb étant employé comme pigment. Ensuite son utilisation a été largement répandue aux XIX^{ème} et XX^{ème} siècles, sa production atteignant 1 Mt.an-1 à l'ère industrielle. Pendant la première moitié du XX^{ème} 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. Cependant, depuis les années 1970, le développement de nouvelles technologies ainsi que la prise en compte des problèmes environnementaux et de santé publique 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 batteries. Par contre, la production secondaire (à partir de la valorisation des déchets) progresse par rapport à la production primaire (à partir de minerais). La France produit 300 000 tonnes de Pb par an dont 40% est du métal recyclé. En 2004, les batteries au plomb, destinées à l'automobile ou à l'industrie, représentent 72 % de la consommation de plomb (53 % automobile, 19 % industrie). Les pigments et autres composés chimiques représentent 12 % de la consommation. Les autres applications (alliages pour soudures, tuyaux et feuilles, munitions, ...) représentent 16 % (BRGM, 2004).

II.5.2. Différentes utilisations du plomb

La présence généralisée du plomb dans l'environnement est essentiellement due aux activités humaines. Cette origine anthropique est multiple car les utilisations passées ou présentes du plomb sont très nombreuses.

-Activités métallurgiques : Elles comprennent la métallurgie de première fusion lors de laquelle le minerai de plomb subit différents traitements afin d'extraire le plomb et les autres métaux. Il existe aussi la métallurgie de 2^{ème} fusion ou recyclage, qui consiste à obtenir du métal par la récupération de déchets contenant du plomb.

-Production d'essence au plomb : Le tétraéthyle de plomb ($Pb(C_2H_5)_4$) était le principal constituant des agents antidétonants ajoutés à l'essence, pour augmenter le taux d'octanes. Cette utilisation est interdite depuis le 1er janvier 1996. Avant son interdiction, le plomb utilisé dans l'essence représentait la majeure partie du plomb disséminé, à cause des émissions de fumées.

-Protection contre les radiations : Du fait de sa densité importante, le plomb est utilisé pour la protection contre le rayonnement.

-Accumulateurs. Les batteries au plomb sont constituées de 2 électrodes, une positive ($PbO_2/PbSO_4$) et une négative ($Pb/PbSO_4$) immergée dans une solution d'acide sulfurique (H_2SO_4). Une batterie contient environ 8,6 kg de plomb. Les batteries restent la principale utilisation du plomb actuellement.

-Munitions (cartouches et grenailles de plomb) et lest de pêche : Des études (Baron, 2001) ont montré que cette utilisation était responsable du saturnisme des oiseaux. De plus, cela entraîne la dispersion d'environ 8000 t.an⁻¹, dont les $\frac{3}{4}$ sont dus à la chasse (BRGM, 2004).

-Peintures, pigments, apprêts : La cérusite ou blanc de plomb ont été utilisés dans les peintures pendant près de 2000 ans. Le plomb a également été utilisé comme composante de nombreux pigments en peinture.

-Verre et Cristal : Le plomb est utilisé pour abaisser la température de fusion et pour assurer une meilleure transparence. Une fois que le plomb est relâché dans l'atmosphère, il peut traverser des milliers de kilomètres, surtout si les particules sont submicroniques ou s'il est sous forme de composés organiques volatils.

Le plomb trouvé dans les sols urbains vient des habitats anciens (peintures, chauffage au fuel...) ainsi que des émissions de fumées automobiles. Celui trouvé dans les sols ruraux vient plutôt des activités industrielles (production de batteries,...), des munitions pour la chasse, des manufactures et des mines. Il faut aussi considérer le plomb qui vient de l'atmosphère et qui se dépose, le lessivage des peintures, ainsi que les pluies acides, le fonctionnement des décharges et des stations d'épuration.

De fortes concentrations en plomb sont mesurées à proximité des routes. Elles proviennent d'abord des anciennes émissions de gaz d'échappement des automobiles. Le plomb s'est alors solidement fixé aux particules de sol. Une petite partie de ce plomb peut 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. Le mouvement du plomb associé aux particules du sol dépend du type de plomb (sels ou composés) et des caractères physico-chimiques du sol. Le niveau de plomb peut augmenter

dans les plantes, les animaux, l'air, l'eau ou les sols. En effet, la consommation de produits contaminés entraîne le passage de plomb dans les organismes.

II.5.3. Cycle biogéochimique

Le plomb contenu dans les roches peut se retrouver dans les sols, par altération de ces dernières, à des teneurs variables selon la composition initiale de la roche mère. De même, il est présent dans tous les autres compartiments de l'environnement (eaux, air et même les êtres vivants).

La localisation ou la forme chimique du plomb dans l'environnement peut varier selon des phénomènes naturels ou par l'intervention de l'homme. Il existe donc un véritable cycle biogéochimique du plomb (tout comme il existe un cycle pour les éléments majeurs et les autres éléments traces) au cours duquel le plomb change de compartiment et de forme chimique sous l'influence de processus naturels ou anthropiques (Baize, D, 1997).

II.6. Utilisation du plomb

Le plomb est un métal largement utilisé dans les batteries de voiture au plomb, sous forme de tôles plombées dans le secteur de la construction, dans le plastique PVC, dans les munitions, dans le cristal et la céramique, dans les ceintures de lest pour la plongée, dans les plombs pour la pêche, sous forme d'écran contre les radiations, etc. Auparavant, le plomb était utilisé comme pigment dans les peintures et comme antidétonant dans l'essence. Ces utilisations sont interdites dans l'Union européenne depuis les années 1990.

L'utilisation passée du plomb dans l'essence et les émissions historiques par les producteurs de métaux non-ferreux a entraîné une augmentation des concentrations de plomb dans le sol, l'eau et l'air. Le plomb étant fortement lié aux caractéristiques du sol, son absorption racinaire est très faible et la majeure partie du plomb présent dans les parties des plantes situées hors du sol provient de dépôts atmosphériques de plomb (BRGM ; 2003).

III. Le plomb dans le sol

III.1. Généralités et concepts de base

Issu d'un processus d'altération, le sol est un milieu poreux, créé par des processus physiques, chimiques et biochimiques qui transforment des matériaux géologiques sous l'action combinée des êtres vivants et des solutions de percolation. Il est formé de minéraux primaires, hérités de la roche mère auxquels s'ajoutent des minéraux secondaires, issus de la transformation chimique des précédents. Les constituants organiques interfèrent fortement avec les constituants minéraux.

Le plomb est un élément minéral naturellement présent dans la croûte terrestre, en général à de faibles teneurs, 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 dans les différents compartiments de l'environnement. Ceci surtout au voisinage des centres urbains et industriels, mais également dans des zones plus reculées.

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. Il peut être soit sous forme liée aux particules de terre 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 ETM dans l'environnement. Il est donc fondamental de déterminer la genèse, la répartition, la localisation la configuration des associations du plomb avec les différents constituants du sol (Baize, 1997).

III.2. 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.), de son fonctionnement actuel, de la dynamique propre de l'élément et de la spéciation initiale du polluant (intérêt de caractériser les sources).

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 les métaux.

III.2.1. Interactions avec les oxydes de fer et de manganèse

Les oxydes et les hydroxydes présents en abondance sous forme amorphe ou cristalline dans la majorité des sols jouent un rôle prépondérant dans la sorption des ions métalliques de par leur faible solubilité dans les conditions ordinaires de pH. Les oxydes et hydroxydes de fer (goëthite, lépidocrocite, magnétite, ferrihydrite, formes amorphes) et de manganèse sols montrent une affinité particulière pour les éléments traces. Ils jouent un rôle d'échangeurs de cations. Des phénomènes d'échange et d'adsorption spécifique peuvent conduire à des accumulations de quantité relativement fortes d'éléments traces.

Dès 1995, 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 (Gavalda, 2001).

III.2.2. Interactions avec les argiles

Les argiles sont des silicates d'aluminium organisés en feuillets formés d'un empilement successifs de couches tétraédriques - et octaédriques. Des substitutions isomorphiques de Si par Al dans la couche tétraédrique et d'Al par Fe et Mg dans la couche octaédrique vont générer des charges négatives sur les feuillets qui sont compensées par des cations majeurs tels que K^+ , Na^+ ou Ca^{2+} mais aussi des éléments traces tels que le Pb^{2+} . Chaque zone de cassure des feuillets est également chargée électriquement, or ces cassures sont nombreuses car les argiles sont des particules de petite taille ($2\mu m$). Elles possèdent donc 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).

III.2.3. Interactions avec les matières organiques du sol (MOS)

De nombreux travaux ont permis de mettre en évidence l'affinité des ETM pour les MOS. Cette affinité se traduit par des réactions d'absorption, qui sont contrôlées par des complexes de sphère interne ou externe ou bien par des mécanismes d'échanges ioniques. Les métaux se complexent à des matières organiques de poids moléculaires variables, par exemple aux substances humiques, qui sont les constituants majeurs de la fraction organique de la plupart des sols. Ces substances possèdent une capacité à fixer des métaux, qui ont été mise en évidence dans de nombreux travaux.

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 (Stevenson, 1989).

III.2.4. Complexes organiques

Dans certains sols, la formation d'espèces méthyles d'origine microbienne a déjà été évoquée. Ces espèces sont beaucoup moins présentes que les complexes inorganiques, mais elles sont beaucoup plus toxiques. Il existe aussi des alkyles de plomb (qui étaient présents dans les essences) qui présentent une très forte toxicité, et qui s'accumulent dans des organismes marins.

Déterminer la spéciation des métaux dans la solution implique d'extraire la solution du sol, grâce à des dispositifs expérimentaux comme des lysimètres, des bougies poreuses ou bien grâce à des centrifugations du sol. Cependant, ils introduisent des artefacts dans la composition chimique de la solution extraite, ce qui peut altérer la spéciation du métal identifié. Une fois extraite, la solution peut être analysée par des techniques spectrométriques (ICP-AES ou ICP-MS selon la gamme de concentrations considérée). L'estimation de la fraction labile du plomb peut être réalisée grâce à l'utilisation des DGT (diffusion gradient in thin film) (Liator, 1988).

III.3. Mobilités 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, la mobilité du plomb est principalement contrôlé 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 déterminante. Le plomb était 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. Les travaux de Sterckeman (2000) par exemple, démontrent que dans des profils de sol au voisinage de 2 fonderies du Nord-pas de Calais, le plomb est essentiellement concentré dans les 30 premiers centimètres (Juste, 1988).

III.4. 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. 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).

III.4.1. Notion de phytodisponibilité

La notion de phyto-disponibilité 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) ». Lorsque l'organisme vivant est une plante, on parle de phytodisponibilité (Baize, 1997).

III.4.2. 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 qui peut être immobilisé par les charges négatives des parois cellulaires. 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).

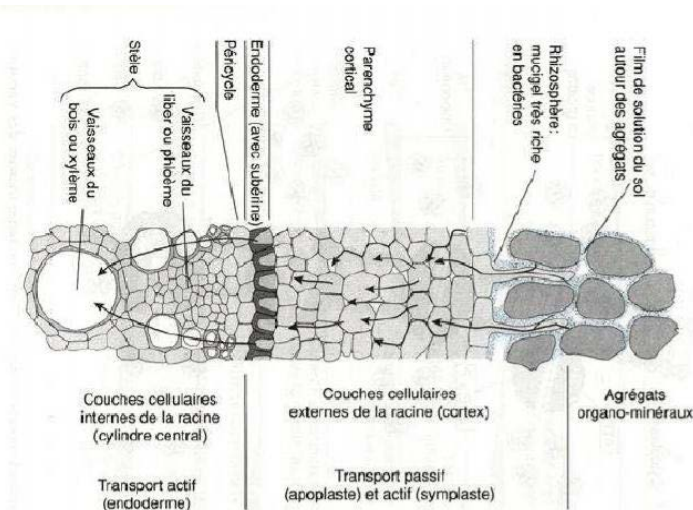


Figure n°1 : Coupe transversale de racine, avec le passage des ions selon les voies symplastiques et apoplastiques (Gobat *et al.*, 1998).

III.4.3. Transferts 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 : $FBC = \frac{[Pb] \text{ plante}}{[Pb] \text{ substrat de culture}}$ avec les concentrations exprimées en $mg.kg^{-1}$ et relatives aux masses sèches du sol et des plantes. Plus la plante absorbe facilement le plomb, plus le facteur de transfert n'est pas grand. Ce transfert du sol vers les plantes est fonction :

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

Bien que le facteur de transfert soit assez largement utilisé dans les études portant sur l'impact de la contamination d'un sol sur les plantes, il existe de nombreuses ambiguïtés quant à son calcul. Tout d'abord, même s'il est la plupart du temps calculé à partir de la teneur totale en métal dans le sol, certains auteurs suggèrent que l'utilisation du métal biodisponible est plus judicieuse. Elle permet selon eux de mieux prédire le transfert potentiel

du plomb du sol vers les plantes, en comparaison avec les teneurs totales. Une autre ambiguïté dans le calcul de ce facteur de transfert réside dans la manière de calculer la concentration dans la plante. En effet, après la récolte de plantes ayant été en contact direct avec le sol, les racines sont soigneusement rincées avant de procéder à la minéralisation et au dosage. Ce rinçage n'est jamais complet et il est possible que des particules de sols soient analysées en même temps que les tissus des racines. En effectuant ce rinçage avec des solutions acidulées, il est possible de réaliser également une désorption acide, qui permet de détacher le plomb adsorbé à la surface des racines. Par exemple utilise cette technique pour la désorption du cuivre. Cette quantité retrouvée dans la désorption représente souvent une majorité du plomb total de la plante. On peut donc se poser la question de savoir s'il faut tenir compte de cette quantité désorbée pour calculer le facteur de transfert. En effet, ce plomb n'a pas pénétré à proprement parler dans la plante, cependant, il est malgré tout étroitement lié aux racines et donc peut à terme être absorbé.

III.4.4. Translocations 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 (par circulation de la sève brute). Ce flux d'ions métalliques dans le xylème nécessite leur chélation à des acides organiques (tels que le citrate) ou à des acides aminés.

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. Pour illustrer ce propos, différents auteurs ont défini un facteur de translocation (Briat et Lebrun, 1999).

III.4.5. Toxicités

La toxicité du plomb dépend de sa concentration dans le milieu, de sa spéciation, des propriétés du sol, et enfin de l'espèce végétale concernée. 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 (Seregin et al, 2004 ; Sharma et Dubey, 2005).

III.4.5.1. Action sur les activités enzymatiques

Le plomb peut inhiber l'action de certaines enzymes, 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. 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 CO₂. L'inhibition de ce type d'enzymes entraîne une forte perturbation de la photosynthèse. Ceci entraîne une réduction de la teneur en chlorophylle ainsi que celle de tous les pigments photosynthétiques, et également une croissance réduite des feuilles. Une concentration plus élevée en plomb provoque une substitution de l'atome de magnésium au centre de la molécule de chlorophylle par un atome de plomb, provoquant un arrêt de la photosynthèse. La photosynthèse reste de ce fait un des mécanismes les plus affectés par la présence du plomb.

III.4.5.2. Effets sur la nutrition minérale

Le plomb affecte également la nutrition minérale, 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. A montré que la présence de plombs 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).

III.4.5.3. Stress hydrique

Le plomb peut également affecter l'état hydrique de la plante, en provoquant un stress hydrique, notamment par la fermeture des stomates. Cette fermeture des stomates a un impact sur divers processus dans la cellule, tel que la photosynthèse, en induisant une déficience en CO₂. Le stress hydrique s'exprime également par une réduction de la surface foliaire, ainsi que globalement de tous les organes sièges de la transpiration, afin de limiter les pertes en eau. On observe ensuite un flux transpiratoire diminué, une pression osmotique plus faible ou un potentiel hydrique réduit dans le xylème. Le plomb provoque une perte globale de turgescence et de plasticité, et enfin une réduction globale du contenu en eau de la plante (Parys et al., 1998).

III.4.5.4. Génération de stress oxydant

Un des effets très importants provoqué par le plomb dans les cellules est la génération de stress oxydant, qui est définie comme un déséquilibre entre les systèmes pro oxydants et antioxydants, en faveur des premiers et source d'effets toxiques potentiels. Les espèces réactives de l'Oxygène (ERO), normalement produites dans les cellules se retrouvent en excès ces espèces réactives de l'oxygène incluent l'anion superoxyde (O₂⁻), le radical hydroxyle (OH⁻) ou encore le peroxyde d'hydrogène. Le stress oxydant entraîne un ralentissement de la croissance végétale, mais également des dommages moléculaires en interagissant avec des substrats biologiques (dénaturation de protéines, inactivation d'enzymes, des cassures au niveau de l'ADN (Sies, 1991).

III.4.5.5. Croissance et morphogénèse

Globalement, le plomb affecte la croissance et la morphogénèse des plantes, en perturbant de très nombreux mécanismes physiologiques. Il inhibe fortement la germination et la croissance des plantes, entraînant la formation de plantes de taille réduite. Le plomb affecte considérablement la morphologie des racines, en diminuant la taille des racines primaires ainsi qu'en réduisant le nombre de racines secondaires. L'inhibition de la division et de l'élongation cellulaire sont les phénomènes les plus souvent reportés pour expliquer ces effets du plomb sur les racines. Ceci avait déjà été mis en évidence il y a près de 80 ans par Hammett (1929) qui avait montré une diminution de l'index mitotique dans les racines de maïs et d'oignon, provoquée par la présence de Pb(NO₃), et qu'il avait expliqué par la fixation du plomb sur les groupements -SH des protéines.

Les concentrations en plomb toxiques pour les végétaux varient considérablement selon les études. En effet, cette toxicité dépend fortement des interactions du plomb avec les espèces végétales considérées, mais également du mode de culture et des facteurs environnementaux.

III.5. Mécanismes de tolérance chez les végétaux

Seules les plantes qui ont développé des mécanismes de tolérance peuvent survivre à un environnement contaminé. Elles développent en général deux grands types de stratégies. Le mécanisme le plus répandu est l'évitement du stress métallique par exclusion, qui se fait par fixation du métal sur la paroi cellulaire ou bien par sécrétion de chélates. Ceci a pour but de limiter au maximum le prélèvement par les racines, mais également de limiter un éventuel transport des racines vers les parties aériennes. De nombreux auteurs suggèrent que cette restriction a lieu grâce à l'endoderme, qui fonctionne comme une barrière aux transports radiaux du plomb dans la racine, et de ce fait restreint son mouvement vers les organes supérieurs (Seregin et Ivanov, 2001). Pour Kopittke et al (2007), d'autres facteurs entrent en jeu, notamment une immobilisation du plomb dans la paroi cellulaire, par fixation sur les pectines, chargées négativement. Une partie de ce plomb peut alors se déplacer à travers la membrane et atteindre le symplaste. Une deuxième stratégie est donc mise en place par les plantes, qui consiste à détoxiquer le plomb qui a pénétré. La tolérance au stress métallique dépendra donc de l'efficacité des mécanismes internes qu'elles mettent en place. Ces mécanismes peuvent être (Patra et al., 2004):

- la séquestration des métaux grâce à des composés organiques spécialement synthétisés.
- la compartimentation dans certains compartiments cellulaires (tels que les vacuoles).
- la détoxification grâce à des chélates.

Les mécanismes de tolérance internes ne sont pas encore parfaitement connus, mais la chélation du plomb dans le cytoplasme et la séquestration dans les vacuoles seraient des mécanismes prépondérants. La vacuole est en effet considérée comme le lieu principal de stockage du plomb. Selon (Wierzbicka M, 1999), ces vacuoles peuvent en effet contenir plus de 96% du métal. Ceci permet de diminuer considérablement la quantité de métal dans le cytoplasme, compartiment cellulaire à forte activité métabolique.

Des ligands spécialement synthétisés en cas de stress métalliques sont capables de se lier au plomb une fois dans le cytoplasme, pour former des complexes stables, qui peuvent ensuite être séquestrés dans les vacuoles. Les plus connus sont des protéines telles que les

métallothionéines ou les phytochélatines, ainsi que des acides organiques de faible poids moléculaires.

-Métallothionéines

Ce sont des petites molécules qui séquestrent certains ions métalliques en excès (Rausser, 1995). Elles ont d'abord été identifiées comme peptides liant le cadmium dans les cellules végétales. Mais actuellement quelques gènes codant pour les métallothionéines ont été identifiés chez les végétaux (Yan et al. 2010).

-Phytochélatines

Chez de nombreuses espèces, l'entrée de métaux toxiques dans le cytoplasme induit la synthèse de composés appelés phytochélatines. Ce sont donc des polypeptides dérivés de la glutathione (GSH), composés de cystéine. La présence de plomb induit la phytochélatine synthase ainsi que les gènes *gsh1* et *gsh2* responsables de la synthèse du glutathion, précurseurs des phytochélatines (Rausser, 1995; Seregin et al., 2001). Les travaux de Gisbert et al (2003) montrent que des plantes transgéniques qui surexpriment ces gènes précurseurs du glutathion présentent une plus grande tolérance aux métaux que les plantes sauvages. Cette tolérance ne s'accompagne pas d'une baisse de prélèvement du plomb, ni d'une baisse de la translocation. Ceci confirmerait le rôle d'inactivation joué par les phytochélatines. Ce sont des composés pourvus d'un groupement $-SH$ et d'un groupement $-COOH$ qui sont capables de complexer les métaux présents, puis de les transférer dans les vacuoles, puits très importants pour la séquestration des éléments toxiques dans les cellules racinaires, ou bien transportés vers les parties aériennes. Des travaux de Grill et al. (1987) sur des cultures cellulaires de *Rauvolfia serpentina* ont essayé d'évaluer les niveaux de métaux provoquant une induction de la synthèse de ces phytochélatines. Ils ont montré qu'elle avait lieu pour 1mM de Pb^{2+} et Zn^{2+} ; 100 μ M de Cd^{2+} , Ni^{2+} ou Sn^{2+} ; 50 μ M de Ag^{2+} et Cu^{2+} ; 20 μ M de AsO_4^{3-} et enfin 10 μ M de Sb^{3+} .

Des acides organiques sont également des ligands potentiels pour la chélation du plomb, grâce à la capacité du plomb à réagir avec N, S et O. Il a été montré que le citrate, le malate et l'oxalate étaient impliqués dans différents processus métaboliques, pouvant inclure la tolérance aux métaux, le transport dans le xylème ou la séquestration dans les vacuoles (Rausser, 1995).

Il a été également mis en évidence l'implication du calcium dans la tolérance au plomb. Le plomb étant un élément non essentiel, il ne doit pas posséder des canaux spécifiques sur les membranes, (Huang G et al, 1974).

IV. Le modèle biologique *Vicia faba*

IV.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* qui nous intéresse, on dénombre 3 variétés différentes (Gallais and 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.

Nous avons choisi comme modèle expérimental la fève d'Aguadulce (eau douce en espagnol), un cultivar de *Vicia faba major* facile à se procurer en jardinerie et d'une bonne sensibilité aux polluants (Rahoui et al. 2008).

IV.2. Aspect et particularités

La figure 1 représente l'aspect des feuilles, fleurs et fruits de *Vicia faba*. 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 desquels 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.



Figure 2 : Les différentes parties de la fève *Vicia faba* L. (Thomé 1885).

IV. 3. Culture

Cette plante méditerranéenne est peu exigeante sur le 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 (données personnelles). Sa température optimale de pousse se situe aux environs de 20°C.

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 de la France, mais sous des climats moins favorables il faudra attendre le mois de mars pour les semis et le mois de juin pour la récolte.

IV.4. Caryotype et cycle cellulaire

Le caryotype de *Vicia faba* est très simple. Toutes les variétés de la plante sont diploïdes, et possèdent 6 paires de grands chromosomes, dont 5 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 and Owens 2001). Le cycle cellulaire normal de la plante est représenté dans la figure 2. Il dure environ 19,3h au total (Evans and Scott 1963).

IV. 5. Intérêts 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.

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 mutagenèse par le test des aberrations chromosomiques (Sang and 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; Degrossi and Rizzoni 1982). Un autre test de génotoxicité, le test des comètes, est également pratiqué sur différents tissus de la plante (Cotelle 1999; Lin et al. 2007).

Vicia faba 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. Objectif du travail :

Le travail présenté consiste en l'estimation de l'effet procuré par le plomb sur le comportement de la fève. Et englobe l'évaluation de la réponse de la fève face au stress métallique induit par le plomb. Ces réactions s'identifient par des modifications comportementales dans l'élaboration de caractère morphologique.

L'expérimentation a été réalisée au niveau de la serre de la ferme pilote de Mazagran, université de Mostaganem (photo n° 1).

Les analyses effectuées sont réalisées au laboratoire de la biodiversité et conservation des eaux et des sols de l'université de Mostaganem.



Photo 01 : la serre à la ferme pilote de mazagran.

2. Préparation du substrat de culture:

Le sol constituant le substrat de culture a été prélevé de la ferme expérimentale de Mazagran, ce sol est tamisé avec un tamis de 2 mm, séché à l'air libre puis homogénéisé, un échantillon a fait l'objet d'analyse pour déterminer ces propriétés physicochimiques (tableau 04) avec ce sol on a rempli les pots de culture à raison de 3,5 kg de sol/pot. Les pots sont placés ensuite dans la serre expérimentale (photo n°01).

Tableau n4 : Propriété physico-chimique du substrat utilisé.

Granulométrie (Pipette De Robinson)	
- $\varnothing < 2\mu\text{m}$	4.91%
- $2\mu\text{m} < \varnothing < 20\mu\text{m}$	9.46%
- $20\mu\text{m} < \varnothing < 50\mu\text{m}$	6.84%
- $50\mu\text{m} < \varnothing < 200\mu\text{m}$	43.85%
- $200\mu\text{m} < \varnothing < 2\text{mm}$	34.55%
pH (AFNOR X31-103 Sol/Eau : 2/5)	8.59
Conductivité Electrique ($\mu\text{s}/\text{cm}$) (Iso : 11265 Sol/Eau :1/10)	162
Matière Organique (%) (Méthode De Walkley)	1.78
U.S.D.A Texture :	Sable Limoneux



Photo02: Remplissage des pots par le substrat.

3. Protocole expérimental

Les pots remplis de sol sont répartie au niveau de la serre en sept niveaux de traitement D0 pour le lot témoin, et D1, D2, D3, D4, D5 et D6 pour les lots traités avec le plomb. Chaque niveau de traitement est constitué de quatre pots représentant les quatre répétitions (figure n°3)

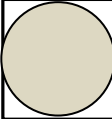
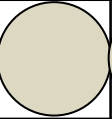
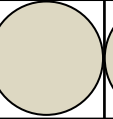
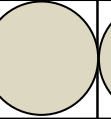
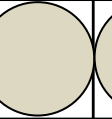
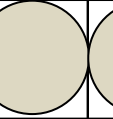
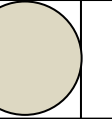
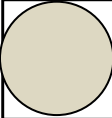
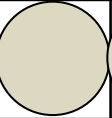
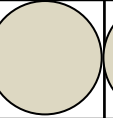
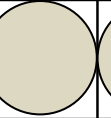
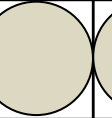
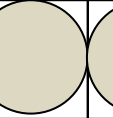
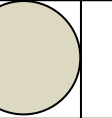
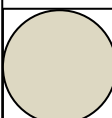
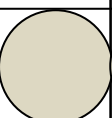
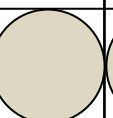


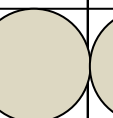
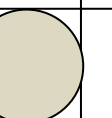
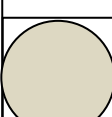

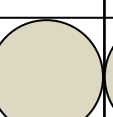


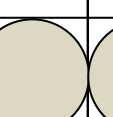

D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6	
							R1
							R2
							R3
							R4

Figure n°3: dispositif expérimental (D: dose, R: répétition).

4. Application du stress.

Le plomb est apporté sous forme de nitrate de plomb ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) à doses différentes 0 ppm (le témoin ou D0), 50ppm (D1), 100ppm (D2), 200ppm (D3), 500ppm (D4), 1000ppm (D5) et 2000ppm (D6). L'application du stress (photo n°3) est effectuée directement sur le sol avant le repiquage des grains.



Photo 03: Application de stress.

5. Matériels végétal utilisé.

Les graines de la fève sont de la variété Sidi Aïch, elles sont soigneusement fournies par le Centre National de Contrôle et de Certification des Semences et Plantes (CNCCSP) station est d'El-Khroub (Constantine).

5.1. Germination des graines

Les graines de *Vicia faba* sont triées et désinfectées par un lavage à l'eau de Javel (12 %) afin d'éviter toutes contaminations fongiques possibles, puis rincées à l'eau distillée pour éliminer l'excès de l'eau de javel. Pour faciliter et homogénéiser leur germination, les graines sont placées dans de l'eau distillée. Elles sont ensuite, disposées dans des boîtes en plastiques (photo n°4) et mises à germer entre deux couches de papier filtre imbibé continuellement par de l'eau distillée, les boîtes sont maintenues à l'obscurité et à une température comprise entre 25 et 28°C pendant 5 jours.



Photo04 : Germination des graines de la fève variété Sidi Aïch.

5.2. Le repiquage des graines

Au bout du quatrième jour après la germination, les graines sont repiquées soigneusement à raison de deux graines par pot, après l'apparition des jeunes plantules une seule plante est conservée pour chaque pot.

Les plantes sont conservées dans la serre jusqu'à la fin de l'expérimentation (photo n°5).

L'irrigation se fait deux fois par semaine, une fois avec l'eau de robinet et une fois avec le fertilisant. La concentration de la solution fertilisante est de 30g/10l.



Photo 05 : l'installation de la culture de *Vicia faba* sous serre.

6. Paramètres morphologiques

Les différents paramètres morphologiques mesurés sont estimés à la fin du cycle végétatif c'est-à-dire 90 jours après la mise en culture.

6.1. Paramètres morphologiques aériens

Les mesures ont porté sur le nombre d'étages foliaires, sur le nombre des folioles, sur la longueur de la tige et sur la surface foliaire qui est déterminée par le logiciel "image J" sur le scan des feuilles.

6.2. Paramètres morphologiques sous-terrains

Les pots sont vidés de leur contenu, le système racinaire est récupéré et soigneusement lavé. Le nombre de nodosités et le volume racinaire (ml) obtenus par immersion dans une éprouvette gradué sont déterminés.

7. Analyse statistique

L'analyse statistique se porte sur l'analyse de variance à un seul facteur en randomisation (le test est significatif quand $p < 0.05$), et sur la comparaison des moyennes par le test de NEWMAN-KEULS. Les différents traitements statistiques des données obtenues sont réalisés par StatBox version 6.40 et vérifiés par Statistica 8, les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écartype (Mean \pm SD).

Chapitre III

Résultats & Discussions

I. paramètres sous-terrains

I.1. Nombre des nodosités

Les valeurs moyennes du Nombre des Nodosités (figure 04) montrent une claire diminution de ce paramètre en fonction de l'intensité de la dose de plomb appliquée dans le substrat. Le nombre des nodosités enregistré (tableau n°05) pour le témoin est de l'ordre de 9 cette valeur est la plus importante, au niveau du traitement D_1 (50 ppm) la valeur de ce paramètre est de 6 nodosités inscrivant une régression par-rapport au témoin de l'ordre de 33,33%, dans le lot D_6 (2000 ppm) cette régression atteint un taux de 77,77% par rapport au témoin avec un nombre des nodosités de l'ordre de 2.

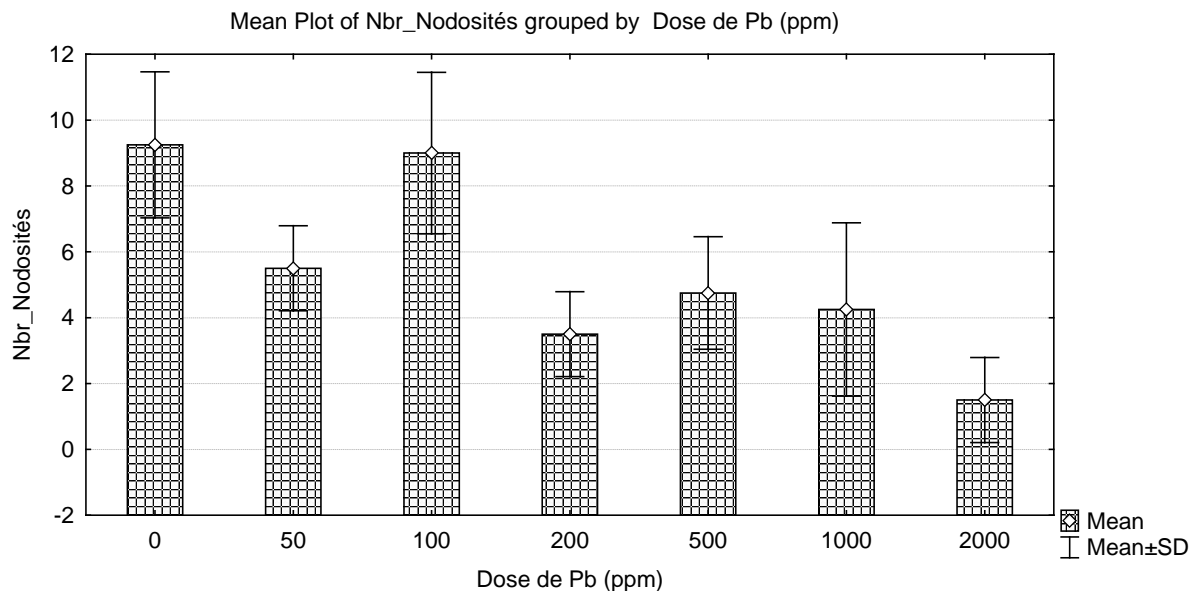


Figure 04: l'évolution du nombre de nodosités de *Vicia faba* L en fonction de la dose du plomb.

Tableau 05 : Nombre des Nodosités en fonction de la concentration en Plomb.

Dose de plomb (ppm)	Nombre des Nodosités (mg/g)	Taux d'évolution (%)*
D_0 (0 ppm)	9 ± 2 ^A	-
D_1 (50 ppm)	6±1 ^B	-33,33
D_2 (100 ppm)	9±2 ^A	-0
D_3 (200 ppm)	4±1 ^B	-55,55
D_4 (500 ppm)	5±2 ^B	-44,44
D_5 (1000 ppm)	4±3 ^B	-55,55
D_6 (2000 ppm)	2±1 ^B	-77,77

*: Taux d'évolution par rapport au témoin

A et B: Groupes homogènes selon le test NEWMAN-KEULS.

L'analyse de la variance (tableau n°06) montre que la variation de la Nombre des Nodosités est largement conditionnée par l'intensité du stress de plomb appliqué avec une probabilité $p=0$.

Tableau n° 06: Analyse de la variance des paramètres mesurés.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
Nombre de Nodosités	193,429	6	32,238	8,764	0*
Volume racinaire	59,232	6	9,872	1,542	0,21291
Hauteur de la Tige	277,714	6	46,286	1,126	0,38155
Nombre des étages Foliaires	80,357	6	13,393	2,945	0,03021*
Nombre des Folioles	1547,928	6	257,988	3,38	0,01719*
Surface Foliaire	351,777	6	58,63	12,155	0,00001*

*: test significatif ($p<0.05$)

D'après le (tableau n°05) on peut classer les valeurs moyennes du nombre des nodosités selon le test NEWMAN-KEULS, en deux groupes très distincts, le premier est le groupe homogène A qui regroupe seulement le lot du témoin (0 ppm), le second groupe c'est le groupe D_1 (50 ppm) puis on trouve le groupe C qui regroupe les niveaux de traitement D_2, D_3, D_4, D_5 et D_6.

I.2. Volume racinaire

L'étude des valeurs moyennes (figure 5) montrent que le volume racinaire diminue en fonction de l'intensité de la dose de plomb appliquée dans le milieu. Le volume racinaire enregistré pour le témoin est de l'ordre de 9ml (tableau 07), cette valeur reste la plus

importante, au niveau du traitement D_1 (50 ppm) on enregistre une diminution de ce paramètre qui atteint 8,50 ml avec une régression par-rapport au témoin de 5,55%, dans le lot D2 (100ppm) on assiste à une augmentation du volume racinaire qui atteint 9,29 ml avec une progression par rapport témoin de l'ordre de 3.22%, pour le niveau de traitement D_3 (200 ppm) on enregistre une régression de l'ordre 44,44% par rapport au témoin pour un volume racinaire 5 ml, pour le traitement D_6 (2000 ppm) la volume racinaire est de l'ordre de 7,50 ml enregistrant une régression par rapport au témoin de 16,66%.

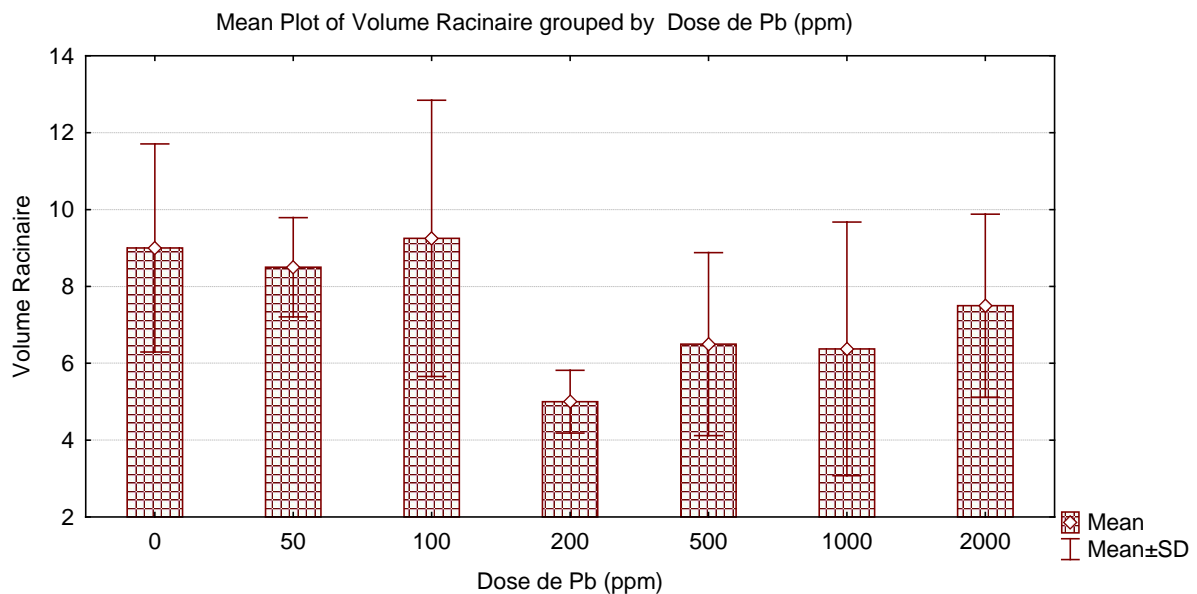


Figure 05: l'évolution des moyennes des volumes racinaires de *Vicia faba* L en fonction de la dose du plomb.

Tableau 07: Volume racinaire en fonction de la concentration en Plomb.

Dose de plomb (ppm)	Volume racinaire (ml)	Taux d'évolution (%)*
D_0 (0 ppm)	9 ± 2,71	-
D_1 (50 ppm)	8,50±1,29	-5,55
D_2 (100 ppm)	9,29±3,59	3,22
D_3 (200 ppm)	5±0,82	-44,44
D_4 (500 ppm)	6,50±2,38	-27,77
D_5 (1000 ppm)	6,38±3,30	-29,11
D_6 (2000 ppm)	7,50±2,38	-16,66

L'analyse de la variance (tableau n°6) montre que le facteur dose de plomb à un effet non significatif sur les variations du paramètre étudié (volume racinaire) avec une probabilité $p > 0,05$.

II. Paramètres aériens

II.1. Hauteur de la Tige

Les valeurs moyennes du taux de hauteur de la tige (figure 6) montrent une diminution de ce paramètre en fonction de l'intensité de la dose de plomb appliquée dans le substrat. La hauteur de la tige enregistré (tableau 08) pour le témoin est de l'ordre de 53,50 cm cette valeur est la plus importante, au niveau du traitement D_1 (50 ppm) on enregistre une diminution de la teneur de ce paramètre qui atteint 47,25 avec une régression par-rapport au témoin de 11,68%, pour le traitement D_2 (100 ppm) la hauteur de la tige est de l'ordre de 55 cm enregistrant une progression de 2,80%, pour les traitement D_3, D_4, D_5 et D_6 on enregistre de nouveau une diminution de la hauteur de tige, cette diminution atteint son maximum pour D_6 (2000 ppm) avec une régression de l'ordre de 14% par rapport au témoin.

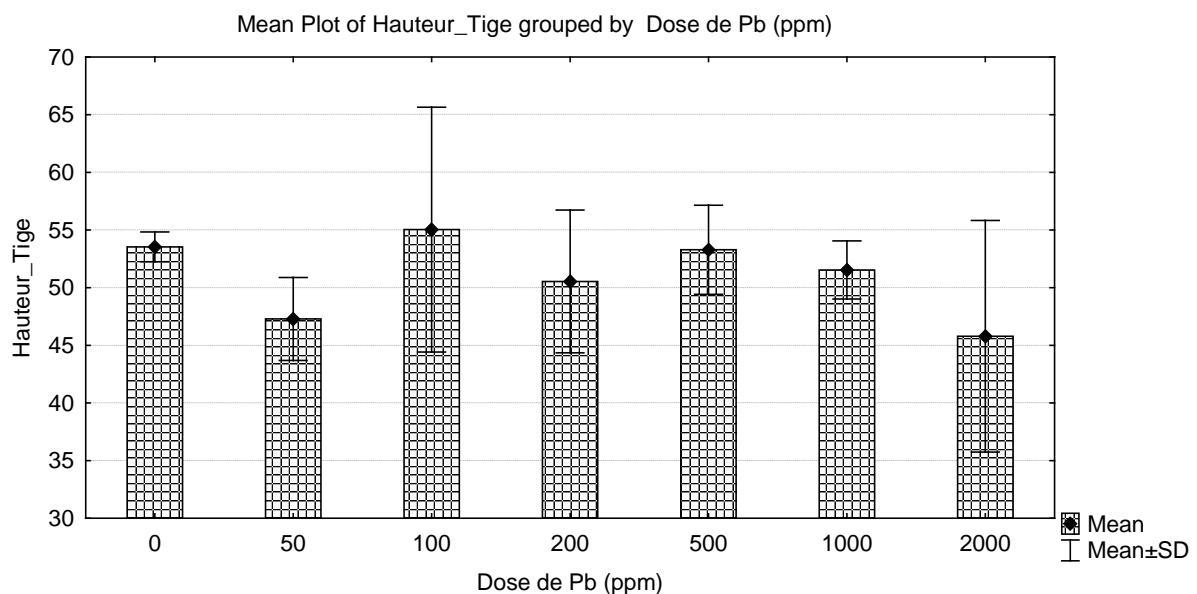


Figure 6: l'évolution des moyennes de la hauteur de tige de *Vicia faba* L en fonction de la dose du plomb.

Tableau 08 : Hauteur de la Tige en fonction de la concentration en Plomb.

Dose de plomb (ppm)	Hauteur de la Tige (cm)	Taux d'évolution (%)*
D_0 (0 ppm)	53,50 ± 1,29	-
D_1 (50 ppm)	47,25±3,59	-11,68
D_2 (100 ppm)	55±10,61	2,80
D_3 (200 ppm)	50,50±6,19	-5,60
D_4 (500 ppm)	53,25±3,86	-0,46
D_5 (1000 ppm)	51,50±2,52	-3,73
D_6 (2000 ppm)	45,75±10,05	-14,48

*: Taux d'évolution par rapport au témoin

L'analyse de la variance (tableau n° 06) montre que le facteur étudié n'a aucun effet significatif sur les fluctuations des valeurs de la hauteur de la tige ($p=0,38155$).

II.2. Nombre des étages Foliaires

Les valeurs moyennes du nombre des étages foliaires (figure n°7) montrent une claire diminution de ce paramètre en fonction de l'intensité de la dose de plomb appliquée dans le milieu. Le nombre des étage foliaire enregistré (tableau 09) pour le témoin est de l'ordre de 17,75 cette valeur est la plus importante, au niveau du traitement D_1 (50 ppm) la moyenne enregistrée est de $17\pm 2,16$ avec une régression par-rapport au témoin de l'ordre de 4,22%, cette régression atteint pour le niveau de traitement D_4 (500 ppm) un taux de 28,16% par rapport au témoin pour un nombre des étage foliaire de l'ordre de 28,16. Pour le traitement D_6 (2000 ppm) le nombre des étages foliaires est de l'ordre de 13,50 enregistrant une régression par rapport au témoin de 23,94%.

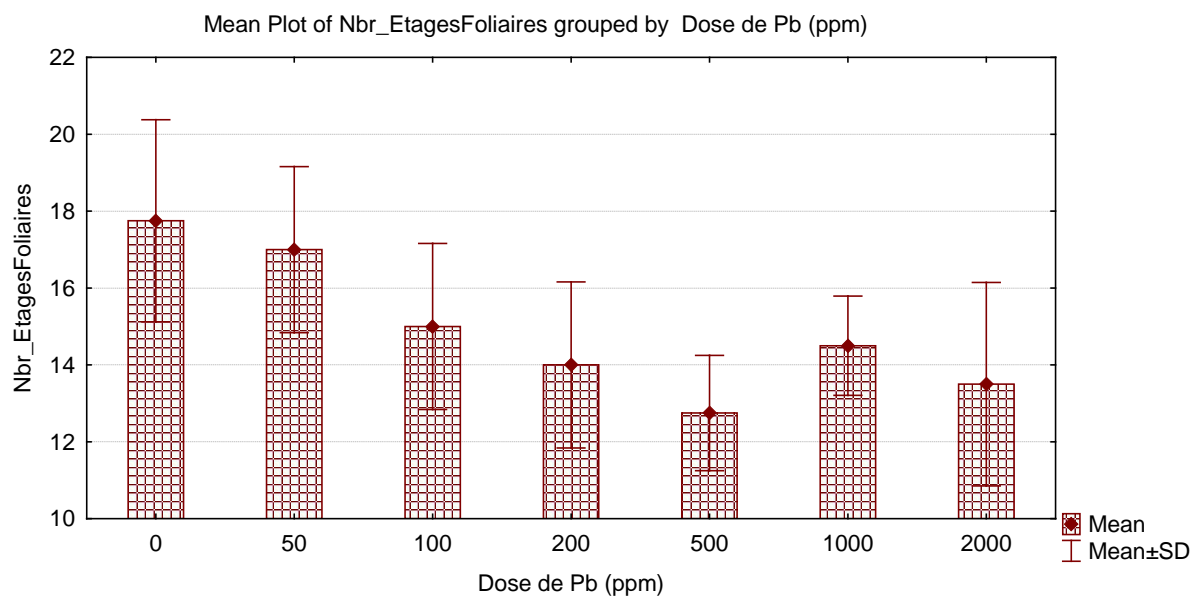


Figure 7: l'évolution des moyennes des nombres d'étage foliaires de *Vicia faba* L en fonction de la dose du plomb.

Tableau 09 : nombre des étages Foliaires en fonction de la concentration en Plomb.

Dose de plomb (ppm)	nombre des étages foliaire	Taux d'évolution (%)*
D_0 (0 ppm)	17,75 ± 2,63 ^A	-
D_1 (50 ppm)	17 ± 2,16 ^{A B}	-4,22
D_2 (100 ppm)	15 ± 2,16 ^{A B}	-15,49
D_3 (200 ppm)	14 ± 2,16 ^{A B}	-21,12
D_4 (500 ppm)	12,75 ± 1,50 ^B	-28,16
D_5 (1000 ppm)	14,50 ± 1,29 ^{A B}	-18,30
D_6 (2000 ppm)	13,50 ± 2,65 ^{AB}	-23,94

*: Taux d'évolution par rapport au témoin

A, B et AB: Groupes homogènes selon le test NEWMAN-KEULS.

L'analyse de la variance (tableau n°06) montre que la variation de nombre des étages foliaires est largement conditionnée par les fluctuations et l'intensité du stress de plomb appliqué avec une probabilité $p=0,03021$.

D'après le (tableau 09) on peut classer les valeurs moyennes du nombre des étages foliaires selon le test NEWMAN-KEULS en trois groupes très distincts, le premier est le groupe homogène A qui regroupe seulement le lot du témoin (0 ppm), puis on trouve le groupe AB

qui regroupe les niveaux de traitement D_1 D_2, D_3, D_5, D_6, enfin le groupe B avec seulement le niveau de traitement D_4(2000 ppm).

II.5. Nombre des Folioles

Les valeurs moyennes du nombre des folioles (figure n°8) montrent une claire diminution de ce paramètre en fonction de l'intensité de la dose de plomb appliquée dans le substrat. Pour le témoin D_0 le nombre des folioles est de 61,25 (tableau10), cette valeur est la plus importante, au niveau du traitement D_1 (50 ppm) la valeur moyenne est de 57,25 avec une régression par-rapport au témoin de l'ordre de 6,53%, cette régression atteint pour le niveau de traitement D_6 (2000 ppm) un taux de 36,37% pour une valeur moyenne de 38,75.

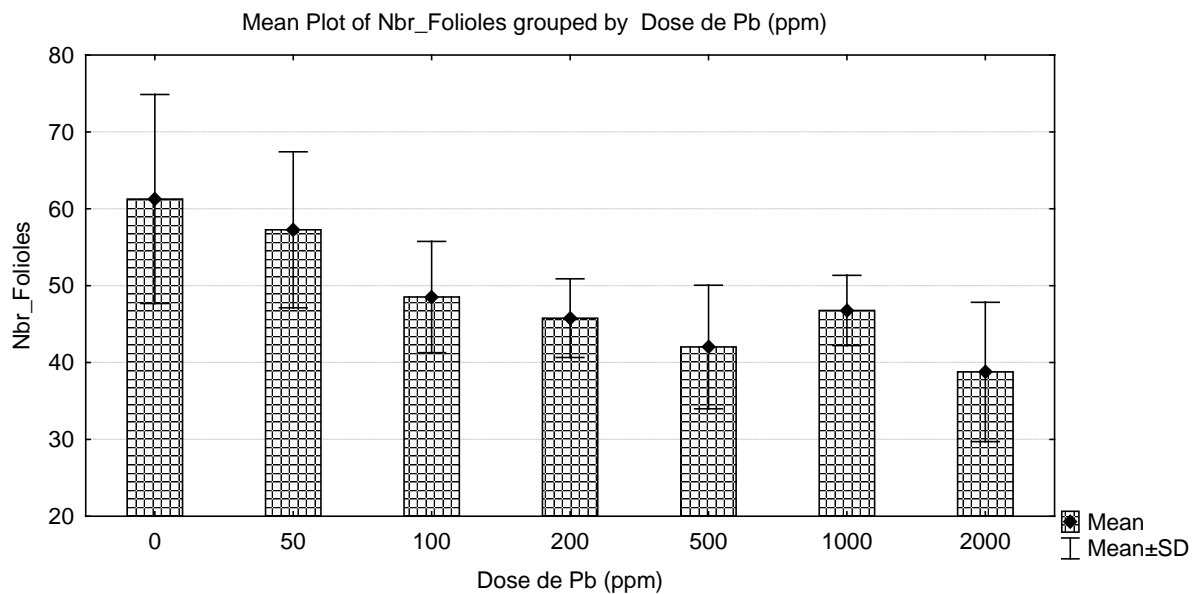


Figure 8: l'évolution des moyennes des nombres des folioles de *Vicia faba* L en fonction de la dose du plomb.

Tableau 10 : Nombre des Foliolles en fonction de la concentration en Plomb.

Dose de plomb (ppm)	Nombre des Foliolles	Taux d'évolution (%)*
D_0 (0 ppm)	61,25 ± 13,60 ^A	-
D_1 (50 ppm)	57,25±10,14 ^{A B}	-6,53
D_2 (100 ppm)	48,50±7,23 ^{A B}	-20,81
D_3 (200 ppm)	45,75±5,12 ^{A B}	-25,30
D_4 (500 ppm)	42±8,04 ^{A B}	-31,42
D_5 (1000 ppm)	46,75±4,57 ^{A B}	-23,67
D_6 (2000 ppm)	38,75±9,07 ^B	-36,73

*: Taux d'évolution par rapport au témoin

A, B et AB: Groupes homogènes selon le test NEWMAN-KEULS.

L'analyse de la variance (tableau n°06) montre que la variation du nombre des foliolles est largement conditionnée par les fluctuations et l'intensité du stress de plomb appliqué avec une probabilité $p=0,01719$.

D'après le tableau 10 on peut classer les valeurs moyennes du nombre des foliolles selon le test NEWMAN-KEULS (annexe02) en trois groupes très différents, le premier est le groupe homogène A qui regroupe seulement le lot du témoin (0 ppm), puis on trouve le groupe AB qui regroupe les niveaux de traitement D_1 D_2, D_3, D_4, D_5. et en dernier le groupe B regroupant le traitement D6(2000).

I.6. Surface foliaire

Les valeurs moyennes de la surface foliaire (figure n° 9) montrent une claire diminution de ce paramètre en fonction de l'intensité de la dose de plomb appliquée dans le substrat. La surface foliaire enregistré (tableau11) pour le témoin est de l'ordre de 18,97cm² cette valeur est la plus importante, au niveau du traitement D_1 (50 ppm) la valeur de ce paramètre est de 9,81cm² inscrivant une régression par-rapport au témoin de l'ordre de 48,31%, pour le niveau de traitement D_4 (500 ppm) on enregistre une régression de l'ordre 60,46% par rapport au témoin, pour le traitement D_6 (2000 ppm) la surface foliaire est de l'ordre de 8,97 ml enregistrant une régression par rapport au témoin de 52,73%.

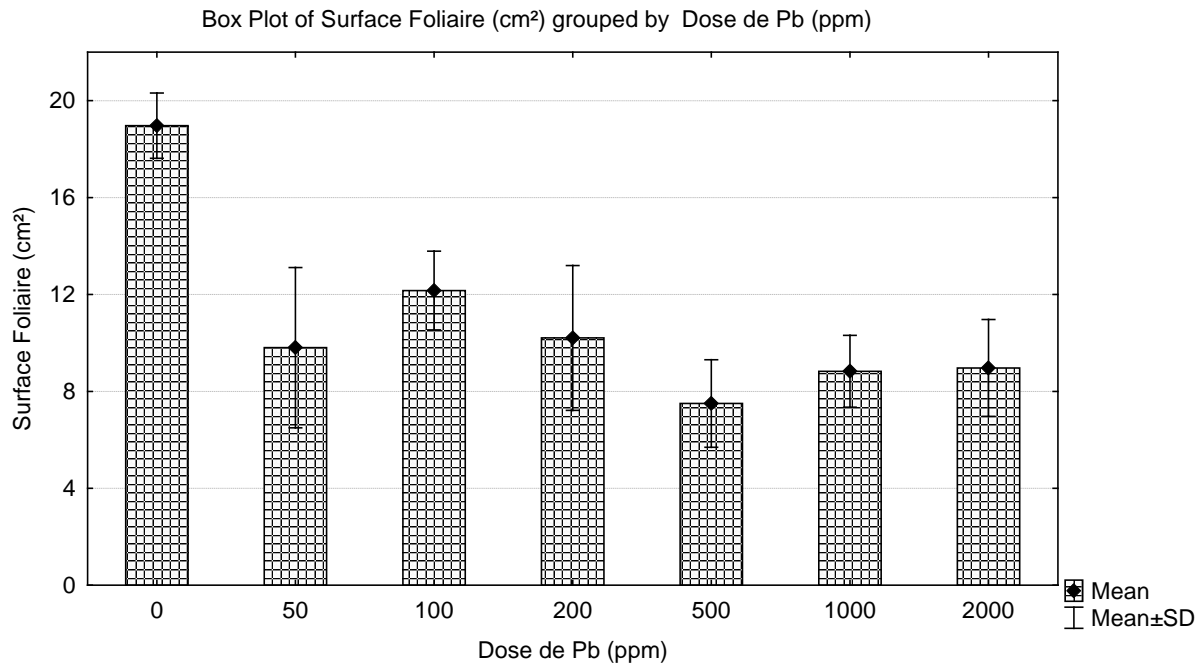


Figure 9 : Evolution de la surface foliaire de *Vicia faba* L en fonction de la dose de Pb.

Tableau 11 : L'évolution de la surface foliaire en fonction de la concentration en Plomb.

Dose de plomb (ppm)	Surface foliaire (cm ²)	Taux d'évolution (%)*
D_0 (0 ppm)	18,97±1,35 ^A	-
D_1 (50 ppm)	9,81±3,31 ^B	-48,31
D_2 (100 ppm)	12,16±1,62 ^B	-35,88
D_3 (200 ppm)	10,21±2,99 ^B	-46,19
D_4 (500 ppm)	7,50±1,80 ^B	-60,46
D_5 (1000 ppm)	8,83±1,48 ^B	-53,45
D_6 (2000 ppm)	8,97±2,00 ^B	-52,73

*: Taux d'évolution par rapport au témoin

A et B: Groupes homogènes selon le test NEWMAN-KEULS

L'analyse de la variance (tableau n° 06) montre que la variation de la surface foliaire est largement conditionnée par l'intensité du stress de plomb appliqué avec une probabilité $p=0$.

D'après le tableau 11 on peut classer les valeurs moyennes du surface foliaire selon le test NEWMAN-KEULS, en deux groupes très distincts, le premier est le groupe homogène A qui regroupe seulement le lot du témoin (0 ppm), le 2^{ème} groupe on trouve le groupe B qui regroupe les niveaux de traitement D_1, D_2, D_3, D_4, D_5 et D_6.

III. Discussion

Le plomb est parmi les polluants les plus toxiques pour les plantes, sols et aussi pour les autres organismes y compris l'homme : malheureusement le mécanisme de la toxicité du plomb dans les plantes n'a pas été bien étudié.

Les résultats présentés ont montré une diminution très remarquable dans le nombre des nodosités allant de 33% pour la dose D_2 (50 ppm) à plus de 77% pour la dose D_6 (2000 ppm), ces variations témoignent d'un effet très significatif du facteur plomb ($p=0$).

L'observation des résultats présentés révèle également une tendance de régression dans le volume racinaire enregistré en fonction de l'intensité du stress plombé appliqué même si le facteur étudié n'a présenté aucun effet sur ce paramètre ($p=0,21$). La diminution enregistrée du volume racinaire varie en fonction des doses du plomb en présence, la dose 1000 ppm a enregistré la plus grande régression (plus de 16%).

L'hauteur de la tige semble aussi suivre la tendance de régression en fonction de l'intensité de la dose de plomb en présence, même si le facteur étudié (dose de plomb) n'a que faible effet sur les variations de ce paramètre ($p=0,38$). En général, les résultats observés ont montré que ce paramètre évolue différemment sous l'intensité du stress plombé, ainsi on a enregistré des régressions qui atteignent plus de 14,48% (dose 2000 ppm).

Pour le nombre des étages foliaires et le nombre des folioles, ces deux paramètres évoluent presque identiquement et sont sous la dépendance du facteur étudié (dose de plomb) avec des probabilités de $p=0,03$ pour les étages foliaires, et $p=0,017$. Les deux paramètres diminuent fortement en fonction de l'intensité du stress imposé, pour ces deux paramètres la dose D_6 (2000 ppm) est celle qui enregistre les plus grandes diminutions.

La surface foliaire semble être très dépendante des variations du facteur étudié ($p=0$), les valeurs enregistrées diminues fortement en fonction de l'intensité de la dose de plomb présente dans le milieu, avec des diminutions qui dépassent les 30%.

Hortensine et coll. et Shah Sing ont démontré, en 1981 que la phytotoxicité se traduit chez certains végétaux par une symptomatologie du type : retard de croissance et diminution du rendement.

L'accumulation excessive de plomb dans les tissus est toxique pour la plupart des plantes, conduisant à des diminutions de la germination, volume racinaire et de la biomasse (Sharma et Dubey, 2005; Brunet et al. 2009; Piotrowska et al. 2009; Sing et al. 2010).

Les présents résultats sont en accord avec les travaux menés sur la fève (Pourrut *et al.*, 2008 ; Bouziani, 2012), où même sur d'autres légumineuses (Islam *et al.*, 2008).

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). Ce qui est en accord avec notre expérimentation, Lei *et al.*, (2006) ont signalé une inhibition non significative du volume racinaire en fonction de la dose de plomb appliqué. Les travaux de Bouziani (2012) menés sur deux variétés de la fève ont révélé un effet significatif sur le volume racinaire avec des réductions pour la variété Sidi Aïch de plus de 66%.

De même, des réductions sont observées dans les travaux de Islam *et al.*, (2008) et Bouziani (2012) ou ont signalé une réduction jusqu'à 10% de réduction de la hauteur de la tige, et plus 15% de la surface foliaire (Islam *et al.*, 2008) et plus de 25% (Bouziani, 2012) par rapport au témoin.

En général, 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).

Conclusion

Les résultats obtenus dans le cadre de la présente étude ont révélé les principaux effets de la contamination par le plomb sur la fève (sidi Aich). Les différents paramètres testés sur les plantes de *Vicia faba* ont permis de montrer, que le plomb induit des effets délétères sur la partie aérienne et aussi au niveau des racines.

Les résultats obtenus dans le présent travail, ont permis d'évaluer les effets engendrés par ce stress métallique sur le comportement morphologique de la fève.

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, le nombre de l'étage foliaire, le nombre des folioles, et la hauteur de la tige.

Au niveau des racines, l'ensemble des paramètres mesurés se trouvent diminués par l'application du plomb. On enregistre des réductions du volume racinaire et du nombre de nodosité.

En résumé, les observations réalisées de cette étude ont révélé que la présence de plomb dans le milieu engendre des perturbations multiples sur le fonctionnement général des plantes, ces perturbations sont à l'origine des modifications visibles de nature morphologique.

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

Référence bibliographie

Alloway, B.J., 1995. Heavy metals in soils. Blackie Academic & Professional, London, 2nd Edition.

Arias JA, Peralta-Videa JR, Ellzey JT, Ren M, Viveros MN, Gardea-Torresdey JL (2010) Effects of *Glomus deserticola* inoculation on Prosopis: Enhancing chromium and Pb uptake and translocation as confirmed by X-ray mapping, ICP-OES and TEM techniques. Environ Exp Bot 68(2):139-148.

AGHTM, 1996. Aspects analytiques du plomb dans l'environnement. Techniques et documentation Ed, 483 p.

Baize D., 1997. Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). Références et stratégies d'interprétation. INRA Éditions, Paris. 410 pp.

Benedetto M ; 1997(méthodes spectrométrique d'analyses et de caractérisation. Exp. Bot.18(2-3):5-8.

Bennett MD. 1976. DNA amount, latitude, and crop plant distribution. Environ. Exp. Bot.16(2-3):93-98, IN1-IN2, 99-108.

Beraud E, 2007. Etude des effets genotoxiques et de l'induction des phytochelatines chez *Vicia faba* (Fabaceae) exposée au cadmium. Application du test Vicia-micronoyaux à des matrices complexes. Metz: Université de Metz. 107 p.

BRGM 2003 ; Guide méthodologique du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués). BRGM MEDD/DPPR-BRGM CV 0300001.

BRGM, 2004. Guide méthodologique du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués). BRGM MEDD/DPPR-BRGM CV 0300001.

Briat JF., Lebrun M., 1999. Plant responses to metal toxicity. Plant Biology and Pathology, cadmium and lead. Plant Physiol. 54, 122-124.

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

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.

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

Dumat, C., Quenea, K., Bermond, A., Toinen, S., Benedetti, M.F., 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.

DeMatos AT., Fontes MP., DaCosta LM., Martinez MA., 2001. Mobility of heavy metals as related to soil chemical and mineralogical characteristics of Brazilian soils. *Environmental Pollution* 111 (3): 429-435.

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

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.

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.

Gallais A, Bannerot H. 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées: objectifs et critères de sélection. Paris: INRA.

Gavalda, D., 2001. Devenir des éléments traces métalliques dans les brousses (livi-redoxisol) après épandage de boues granulées. Thèse de doctorat, INP-ENSAT, 258p.

Gobat J. M., Aragno M. et Matthey W., 1998. Le sol vivant. Bases de pédologie, biologie des sols, Presses polytechniques et universitaires romandes, vol 14, coll. gérer l'environnement, 592pp.

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.

Harter RD., Naidu R., 1995. Role of metal-organic complexation in metal sorption by soils. *Advances in Agronomy* 55: 219-261.

Huang G; Bazzaz FA; Vanderhoef LN, 1974. The inhibition soybean metabolism by cadmium and lead. *Plant Physiol.* 54, 122-124.

Jaap Stéketee, 2010, Fondation Développement et transfert de connaissances sur le sol. P 6.

Juste C., 1988. Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces du sol. *Sci. Sol* 26 (2) 103-112.

Liator I., 1988. Review of soil solution samplers. *Water Resources Research* 24: 727-733.

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.

MacLaughlin MJ, 2000. Soil testing for heavy metals. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 31:1661-1700.

Miquel MG, 2001. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé, rapport de l'office parlementaire des choix scientifiques (Sénat).

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, Bhowmik 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. *Environ Exp Bot* 2004; 52: 199-223.

Pichard A., 2002. Plomb et ses dérivés. Fiche INERIS.

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.

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.

Rahoui S, Chaoui A, Ferjani E. 2008. Differential sensitivity to cadmium in germinating seeds of three cultivars of faba bean (*Vicia faba* L.). *Acta Physiol. Plant.* 30(4):451-456.

Rausser WE., 1995; Phytochelatins and related peptides. *Plant Physiology* 109: 1141-1149.

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.

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.

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.

Sharma P., Dubey RS., 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17 (1): 35-52.

Sies H., 1991. Oxidative stress: introduction. In: Sies H. (ed), *Oxidative stress, Oxidants and Antioxidants*. Academic Press, San Diego, I-XV, 650 p.

Stevenson AJ., 1989. *Humus Chemistry*. John Wiley & Son, New York.

Thome OW, 1885. *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz* Gera, Germany.

Wierzbicka M, 1999a. Comparison of lead tolerance in *Allium cepa* with other plant species. *Environmental Pollution* 104(1): 41-52.

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.

Annexe n°1 : Analyse de la variance des paramètres morphologique étudiés.

Nombre des nodosités

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	270,679	27	10,025		
VAR.FACTEUR 1	193,429	6	32,238	8,764	0
VAR.RESIDUELLE 1	77,25	21	3,679		

Volume racinaire

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	193,67	27	7,173		
VAR.FACTEUR 1	59,232	6	9,872	1,542	0,21291
VAR.RESIDUELLE 1	134,438	21	6,402		

Hauteur de la Tige

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	1140,964	27	42,258		
VAR.FACTEUR 1	277,714	6	46,286	1,126	0,38155
VAR.RESIDUELLE 1	863,25	21	41,107		

Nombre des étages Foliaires

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	175,857	27	6,513		
VAR.FACTEUR 1	80,357	6	13,393	2,945	0,03021
VAR.RESIDUELLE 1	95,5	21	4,548		

Nombre des Foliolles

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	3150,678	27	116,692		
VAR.FACTEUR 1	1547,928	6	257,988	3,38	0,01719
VAR.RESIDUELLE 1	1602,75	21	76,321		

La surface foliaire

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VAR.TOTALE	453,072	27	16,78		
VAR.FACTEUR 1	351,777	6	58,63	12,155	0,00001

Annexe n°2 : Comparaisons de moyennes des paramètres morphologique étudiés.

Nombre des nodosités

TEST DE NEWMAN-KEULS - SEUIL = 5%

FACTEUR 1 : Dose Pb (ppm)

NOMBRE DE

MOYENNES

2

3

4

5

6

7

VALEURS DES PPAS

2,821

3,416

3,779

4,04

4,243

4,409

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	F1n1	9,25	A	
3.0	F1n3	9	A	
2.0	F1n2	5,5		B
5.0	F1n5	4,75		B
6.0	F1n6	4,25		B
4.0	F1n4	3,5		B
7.0	F1n7	1,5		B

Nombre des étages Foliaires

TEST DE NEWMAN-KEULS - SEUIL = 5%

FACTEUR 1 : Dose Pb (ppm)

NOMBRE DE

MOYENNES 2 3 4 5 6 7

VALEURS DES PPAS 3,137 3,799 4,202 4,492 4,718 4,902

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	F1n1	17,75	A	
2.0	F1n2	17	A	B
3.0	F1n3	15	A	B
6.0	F1n6	14,5	A	B
4.0	F1n4	14	A	B
7.0	F1n7	13,5	A	B
5.0	F1n5	12,75		B

Nombre des Foliolles

TEST DE NEWMAN-KEULS - SEUIL = 5%

FACTEUR 1 : Dose Pb (ppm)

NOMBRE DE

MOYENNES 2 3 4 5 6 7

VALEURS DES PPAS 12,851 15,562 17,213 18,4 19,326 20,083

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	F1n1	61,25	A	
2.0	F1n2	57,25	A	B
3.0	F1n3	48,5	A	B
6.0	F1n6	46,75	A	B
4.0	F1n4	45,75	A	B

5.0	F1n5	42	A	B
7.0	F1n7	38,75		B

La surface foliaire

TEST DE NEWMAN-KEULS - SEUIL = 5%

FACTEUR 1 : Dose Pb

NOMBRE DE MOYENNES 2 3 4 5 6 7

VALEURS DES PPAS 3,231 3,912 4,327 4,626 4,859 5,049

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	F1n1	18,968	A	
3.0	F1n3	12,163		B
4.0	F1n4	10,207		B
2.0	F1n2	9,805		B
7.0	F1n7	8,967		B
6.0	F1n6	8,827		B
5.0	F1n5	7,5		B