

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université M'Hamed Bougara de Boumerdès

Faculté des Sciences

Département de Biologie



Mémoire de fin d'études présenté pour l'obtention du diplôme de Master II

Spécialité : Biodiversité et Environnement

Thème

**Les effets de la pollution édaphique par les métaux lourds sur
quelques paramètres morfo-physiologiques du Niébé (*Vigna
unguiculata*)**

Réalisé par :

- **HOUARI Nassiba**
- **LOUNAS Ahlam**
- **BERRICHI Ahlam**

Soutenu publiquement, le 20 /07/ 2023, devant le jury composé de :

Mr. AMGHR F.	Professeur, FS/UMBB	Président
Mme. CHERCHALI A.	MCB, FS/UMBB	Promotrice
Mr. BELLOUT Y.	MCB, FS/UMBB	Examineur

Année universitaire : 2022 / 2023

Remerciements

Nous exprimons notre gratitude envers DIEU d'avoir béni notre travail en nous accordant la force et le courage nécessaires pour le mener à bien.

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers Madame **CHERCHALI AMINA**, qui était à la fois un véritable modèle et un bon exemple pour dire 'كاد المعلم أن يكون رسولا' qui n'était pas seulement notre enseignante et notre promotrice, mais qui était également comme une mère pour nous. Elle était toujours prête à répondre à nos questions et à nous soutenir, et sa présence bienveillante et son engagement étaient constants, depuis le début jusqu'à la fin de notre projet de fin d'études. Travailler avec vous a été un réel plaisir, et nous sommes réellement reconnaissantes de l'opportunité de bénéficier de vos connaissances, de votre expertise et de votre soutien indéfectible. Votre présence chaleureuse et votre dévouement constant nous ont fait sentir soutenus et guidés à chaque étape de notre travail.*

Nous sommes honorés d'avoir eu la chance de travailler avec vous, et cette expérience restera précieuse dans nos mémoires. Merci du fond du cœur pour tout ce que vous avez fait pour nous.

*Une mention très spéciale à **Mme. LAAREDJ FATMA ZOUHRA** ingénieure du laboratoire écologie et environnement pour son aide inestimable, sa bonne humeur et sa patience angélique ; elle nous a assisté, conseillé et encouragé lors de l'exécution de la partie pratique.*

*Nous aimerons remercier aussi tous les ingénieurs des laboratoires de l'UMBB de nous avoir aidés à chaque fois que l'on avait besoin, aussi un grand merci à **Mr. REGHMIT N** responsable du magasin pour son aide précieuse.*

*Nos remerciements vont également à **Mr. AMGHAR F**, professeur à la faculté des sciences (UMBB), de nous avoir fait l'honneur de présider le jury malgré vos nombreuses obligations, votre intervention ne fera qu'enrichir ce travail.*

*Et à **Mr. BELLOUT Y**, maître de conférences B à la faculté des sciences (UMBB), pour avoir accepté de prendre part du jury d'examen de notre travail, votre expérience dans le domaine permettra d'enrichir et de compléter les insuffisances qui nous auraient échappé dans ce mémoire.*

À tous nos camarades de la promotion 2022-2023

Nous remercions tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail de mémoire à toutes les personnes qui ont contribué de manière significative à sa réalisation.

Tout d'abord, je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers mes parents. Leur amour inconditionnel, leur soutien constant et leurs encouragements ont été les piliers de ma réussite. Leur confiance en mes capacités et leur investissement dans mon éducation ont été d'une importance capitale.

*Je souhaite également dédier ce travail à mon frère **Islam** à ma sœur **Bouchra** et son mari **Hamza**, à leurs deux merveilleux garçons **Akram** et **Tadj eldin**.*

*Je tiens à remercier mon ami proche **Ikram**, mes deux collègues de travail **Berrichi Ahlam** et **Lounas Ahlam**, et à ma cousine **Achouak** qui ont été présents à mes côtés, m'encourageant, me motivant et me remontant le moral lorsque cela était nécessaire. Leurs encouragements et leur soutien indéfectible ont été essentiels pour surmonter les défis et les moments de doute.*

NASSIBA

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu le tout puissant qui m'a éclairé les chemins du savoir, j'ai pu réaliser ce mémoire.

Je dédie ce modeste travail avec toute l'ardeur de mes sentiments :

À Mes très chers parents qui m'ont fourni au quotidien un soutien et une confiance sans faille et de ce fait, je ne saurais exprimer ma gratitude seulement par des mots. Que dieu vous protège et vous garde pour nous.

À mes frères MOURAD et AMINE et sœur SARA merci de votre soutien en tout genre, que Dieu renforce nos liens et vous donne courage et chance pour vos perspectives d'avenir.

À mes binômes AHLEM et NASSIBA pour toute leur confiance, qui m'a toujours épaulé, aidé et en souvenir de nos bons moments amicaux.

À toutes mes amies sans exception.

À toute la famille BIOBEST

À toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

À tous ceux qui ont une place dans mon cœur.

***MERCI** d'être toujours là pour moi*

Ahlam L.

Dédicaces

A mes chers parents, la raison de ma présence ici, tous les mots ne suffisent pas pour vous remercier. Je suis reconnaissante pour tout ce que vous avez fait pour moi en termes de patience et de travail acharné.

*À ma petite famille, mes chers frères et surtout mon frère **Sidali**, qui a toujours été à mes côtés tout au long de mon parcours universitaire.*

*À ma chère tante **Souad**, qui a toujours été un soutien pour moi dans toutes les situations.*

*À mes amies, **Nassiba** et **Ahlem**, merci d'être à mes côtés durant cette année spéciale et de présenter ce travail de la meilleure manière possible. Je suis vraiment reconnaissante pour tous les moments précieux que nous avons passés ensemble.*

*À mes chères familles, la famille **Berrichi** et la famille **Hachemi**.*

*À la meilleure enseignante que j'ai rencontrée tout au long de mes 18 années d'études, l'enseignante **Cherchali Amina**, nous n'oublierons jamais votre assistance.*

Ahlem B.

Liste des Abréviations

ANOVA : Analysis of Variance

APX : Ascorbate peroxydase

ASC : L'acide ascorbique

Cat : La Catalase

°C : Degré Celsius.

D.O : densité optique

DHAR : La déshydroascorbate réductase

EC : La première mesure de conductivité

ERO : espèces réactives de l'oxygène

ET : conductivité totale

ETM : Éléments Traces Métalliques

GR : La glutathion réductase

GSH : Le glutathion réduit

GST : La glutathion S-transférase

H₂O₂ : Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂

H₂SO₄ : acide sulfurique

HAP : Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

HClO₄ : acide perchlorique

HNO₃ : acide nitrique

HO[•] : les radicaux hydroxyles

KNOP : Solution nutritive à l'azote, phosphore et potassium,

M : Molaire

MVF : Matière végétale fraîche

MVS : Matière végétale sèche

O₂^{•-} : l'anion superoxyde

Pb : Plomb

PMVF : poids de matière végétale fraîche

PMVS : poids de matière végétale sèche

SAA : spectrométrie d'absorption atomique

SH : sulphydryle

T : Témoins

Liste des Figures

Figure 1 : Quelques sources naturelles des métaux lourds (ETM)	5
Figure 2 : Quelques sources anthropiques des métaux lourds (ETM)	6
Figure 3 : L'élément métallique du plomb et sa classification dans le tableau périodique.....	11
Figure 4 : Cycle biogéochimique des éléments traces métalliques (ETM).....	13
Figure 5 : Schéma de la chaîne respiratoire	16
Figure 6 : Schéma illustrant la morphologie générale des plantes de <i>Vigna unguiculata</i>	22
Figure 7 : Stérilisation des graines dans l'eau javel.....	23
Figure 9 : Placement des graines dans les plateaux	24
Figure 8 : La germination des graines	24
Figure 10 : Disposition expérimentale.	25
Figure 11 : Les mesures biométriques de la longueur.....	26
Figure 12 : Le dosage des sucres éthanolosolubles.....	28
Figure 13 : Le dosage des protéines	29
Figure 14 : Les deux phases résultant de l'extraction de la proline.....	30
Figure 15 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la longueur de la partie aérienne de <i>Vigna unguiculata</i>	33
Figure 16 : Effet des différentes concentrations de plomb sur le PMVF de <i>Vigna unguiculata</i>	34
Figure 17 : Effet des différentes concentrations de plomb sur le PMVF de <i>Vigna unguiculata</i>	35
Figure 18 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la surface foliaire de <i>Vigna unguiculata</i>	36
Figure 19 : Effet des différentes concentrations de plomb sur l'intégrité membranaire de <i>Vigna unguiculata</i>	38
Figure 20 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la teneur en chlorophylles (a+b) de <i>Vigna unguiculata</i>	39
Figure 21 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la teneur des caroténoïdes de <i>Vigna unguiculata</i>	40
Figure 22 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la teneur en sucres éthanolosolubles de <i>Vigna unguiculata</i>	41

Figure 23 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la teneur en Protéine de <i>Vigna unguiculata</i>	43
Figure 24 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la teneur de proline de <i>Vigna unguiculata</i>	44
Figure 25 : Effet des différentes concentrations de plomb sur l'activité de la Catalase chez <i>Vigna unguiculata</i>	45
Figure 26 : Variation de l'accumulation du plomb au niveau des feuilles de <i>Vigna unguiculata</i> en fonction de la concentration de la solution de Pb d'arrosage.....	47

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Les métaux classés en groupes selon le risque potentiel sur la chaîne alimentaire via l'absorption par les plantes.....	10
Tableau 2 : Principales propriétés physico-chimiques du plomb	11
Tableau 3 : Classification de <i>Vigna unguiculata</i> APG III (2009)	22
Tableau 4 : Concentrations des solutions utilisées	24
Tableau 5 : Concentration de plomb dans la matière végétale sèche dans plante <i>Vigna unguiculata</i>	47

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Liste des Abréviations	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Introduction :	1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1 La pollution	3
I.1.1 Définition	3
I.1.2 La pollution édaphique :	3
I.2 Définition des métaux lourds :	4
I.2.1 Sources des métaux lourds dans l'environnement :	4
I.2.1.1 Origine naturelle :	4
I.2.1.2 Origine anthropique :	5
I.2.2 Les métaux lourds dans les plantes :	6
I.2.2.1 La phytodisponibilité des métaux lourds :	8
I.2.2.2 L'absorption des métaux lourds :	8
I.2.2.3 Translocation des métaux lourds :	9
I.2.2.4 L'accumulation des métaux lourds :	9
I.2.3 Les métaux lourds à risque de contamination :	9
I.2.4 Le plomb	10
I.2.4.1 Définition	10
I.2.4.2 Propriétés physiques et chimiques du plomb	11
I.2.4.3 Utilisation de plomb :	12
I.2.4.4 Biogéochimie de Plomb	12
I.2.4.5 Contamination de l'environnement par le plomb :	13

I.2.4.6 Écotoxicologie du Plomb :.....	14
II. Le stress oxydant et systèmes antioxydants :	15
II.1 Le stress oxydatif.....	15
II.1.1 Radicaux libres et espèces réactives de l’oxygène :.....	16
II.1.2 Conséquences biologiques de stress oxydant.....	17
II.1.2.1 Altération des lipides	17
II.1.2.2 Altération des protéines	17
II.1.2.3 Altération des acides nucléiques :	18
II.1.3 Mécanismes de détoxification des espèces réactives de l’oxygène :	18
II.1.3.1 Mécanismes enzymatiques :.....	18
II.1.3.1.1 Superoxyde dismutase SOD :.....	18
II.1.3.2 Ascorbate peroxydase (APX) :.....	19
II.1.3.3 La glutathion S-transférase :.....	19
II.1.3.4 La catalase :	19
II.1.3.2 Mécanisme non enzymatiques :.....	19
III. <i>Vigna unguiculata</i> intérêts agronomiques et économiques.....	20

Chapitre II : Matériel et Méthodes

I. Matériel	21
I.1. Matériel végétal :	21
I.1.1. Description de modèle biologique :	21
I.1.2. Classification phylogénique <i>Vigna unguiculata</i> selon APG III	22
I.2. Le support de culture.....	23
II. Méthodes d'études.....	23
II.1. Démarche expérimentales.....	23
II .1.1 Sélection des grains :	23
II.1.2. germination	23
II .1.2.1. Stérilisation des grains de niébé :	23
II .1.2.2. Mise en germination :	23
II .1.3 Préparation des solutions.....	24

II.2. Mise en pots	25
II.3.2. Mesure de l'intégrité membranaire :	27
II.3.3. Analyse biochimique :	27
II.3 Mesures de l'activité antioxydante enzymatique de la catalase	31

Chapitre III : Résultats et Discussion

III. Résultats et discussion.....	33
III.1 Mesures biométriques de la croissance	33
III.2. Paramètres physiologique et biochimique	37
III.2.1. Intégrité membranaire	37
III.2.2. Teneur en pigments photosynthétiques	38
III.2.3. Sucres éthanolosolubles	40
III.2.4. Teneur en protéines	42
III.2.5. Teneur en Proline	43
III.2.6. Activité de Catalase.....	45
III.2.7. Dosage du plomb foliaire dans la plante	46
Conclusion.....	49
Références bibliographiques	50
Résumé	

Introduction Générale

Introduction Générale

Introduction :

Les métaux lourds, connus aussi sous l'appellation d'éléments traces métalliques (ETM), sont importants sur le plan économique, car ils sont largement utilisés dans plusieurs produits industriels. L'intensification des activités anthropiques a mené inévitablement à l'accumulation de ces ETM dans l'environnement, l'augmentation des teneurs de ces éléments représente une menace sérieuse pour les êtres vivants dans les écosystèmes. Selon Medfu et al., (2020), la pollution par les métaux lourds est un problème environnemental majeur qui réduit la production agricole et la qualité des aliments en raison de l'application excessive d'intrants agricoles tels que les engrais, les pesticides et le paillis, ce qui a entraîné la contamination des sols par les métaux lourds. La plupart des pesticides sont des composés organiques, certains sont des composés organiques-inorganiques ou des minéraux purs, et certains pesticides contiennent du mercure (Hg), de l'arsenic (As), du cuivre (Cu), du zinc (Zn), du (Pb) et d'autres métaux lourds. Le risque de pollution par les métaux lourds dans l'environnement a augmenté rapidement et a créé des perturbations, en particulier dans le secteur agricole, en s'accumulant dans le sol et en étant absorbé par les plantes (Tóth et al., 2016).

Les racines des plantes jouent un rôle essentiel dans l'absorption des ions de métaux lourds provenant du sol. Elles ont la capacité de stabiliser et de relier les polluants présents dans le sol, réduisant ainsi leur biodisponibilité. Ces métaux peuvent causer des dommages aux plantes et, par le biais de la chaîne alimentaire, représenter une menace pour la santé humaine (Alengebawy et al., 2021).

Les éléments traces métalliques (ETM) ont un impact sur la morphologie et la physiologie des plantes de diverses manières :

- Il existe différents sites d'action pour différents métaux lourds au sein de la plante, cependant, la preuve la plus répandue de la toxicité des métaux lourds est la réduction de la croissance des plantes (Michalak, 2006).
- La réduction de la germination des graines et la perturbation de la chaîne photosynthétique et respiratoire, aboutissant à la mort de la plante (Dias et al., 2013).
- les métaux lourds génèrent un stress oxydatif qui dénature les protéines, altèrent les lipides et d'autres composants des membranes (Hsu and Kao, 2004).
- Inhibition des sites actifs des enzymes et/ou modification de la conformation des macromolécules (Shakya et al., 2008).

Introduction Générale

Le plomb est principalement absorbé par les racines où il s'y accumule (environ 96%), ou dans les tissus à forte teneur en cellulose (Piechalak et al., 2002). Le Pb est absorbé indirectement après son accumulation dans l'eau et le sol (Małecka et al., 2008). Il reste encore beaucoup de questions sans réponse sur la façon dont le plomb affecte les organismes et les cellules, y compris les mécanismes de résistance utilisés par les plantes. Certaines plantes peuvent éviter le plomb en limitant son absorption pour faire face au stress. Lorsque le plomb pénètre dans les cellules, cela peut renforcer les processus de tolérance, tels que sa séparation dans des structures cellulaires spécifiques (Samardakiewicz and Woźny, 2000).

Cette étude vise à comprendre le système de défense des plantes en réponse au stress causé par les différentes concentrations de plomb sur la croissance des plantules du niébé (*Vigna unguiculata*), ainsi que sur les teneurs en protéines et en proline dans les feuilles. Nous examinerons également l'activité de la Catalase, une enzyme impliquée dans la détoxification des espèces réactives d'oxygène. En outre, nous évaluerons les niveaux de stress oxydatif en mesurant les conséquences des espèces réactives de l'oxygène produites, sur l'intégrité des membranes et les pigments photosynthétique. En fin, une évaluation de l'accumulation du plomb dans les feuilles de *Vigna* nous permettra d'avoir une estimation des quantités de polluant introduite dans la chaîne alimentaire selon les concentrations utilisées.

Ce mémoire est organisé de la manière suivante :

- Une introduction,
- Une partie résumant la synthèse bibliographique,
- Un chapitre réservé au matériel et à la méthodologie,
- Une partie consacrée aux résultats et à la discussion,
- Une conclusion abordant les perspectives futures de cette étude.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1 La pollution

I.1.1 Définition

Le terme « pollution » a de nombreuses définitions, l'une étant « la présence d'une substance dans l'environnement dont la composition chimique ou la quantité empêche le fonctionnement de processus naturels et produit des effets indésirables sur l'environnement et la santé» (Mehndiratta et al., 2013). La pollution fait référence est donc perçue comme la détérioration des éléments naturels et de l'environnement, comme une rupture d'équilibre de ce qu'on appellera scientifiquement « l'écosystème », ou système écologique (Jodelet et al., 1975). Elle peut endommager la qualité de l'air, de l'eau, du sol et donc des écosystèmes, ainsi que la santé des êtres humains, des animaux et des plantes.

La pollution est généralement associée aux activités humaines (origine anthropique), une concentration anormale du polluant peut être liée à l'utilisation abusive d'engrais et de pesticides par l'agriculture intensive, au trafic routier, aux rejets des industries ou à l'accroissement de l'urbanisation, et bien plus d'autres causes.

I.1.2 La pollution édaphique :

La pollution édaphique qualifie la présence de toutes formes de polluants dans les sols agricoles, forestiers ou urbains. Les polluants atteignent les sols de surface par dépôt atmosphérique de particules en suspension, les sédiments contaminés et de par la circulation des eaux souterraines. Le sol a la capacité de retenir divers polluants, tels que les métaux lourds, les pesticides ou les HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques). Par conséquent, il fonctionne comme un absorbeur de pollution. Il contribue, indirectement, à la contamination de la chaîne alimentaire qui peut également menacer la santé humaine (Wolejko et al., 2020).

Ces substances vont bouleverser l'équilibre des sols, la matière organique et les réserves diminuent, l'eau n'est pas disponible elle devient toxique ou fortement liée. Les conséquences de ce déséquilibre se manifestent dans le déclin de la biodiversité et donc une diminution de la fertilité du sol, le ruissellement de surface engendre la contamination des nappes phréatiques qui deviennent toxiques, puis pénètre dans les végétaux qui seront consommés par les animaux et les êtres humains (Cheriti and Sahli, 2022).

I.2 Définition des métaux lourds :

Métaux lourds est le terme générique pour désigner les éléments métalliques dont la masse volumique est supérieure à 4000 kg/m^3 ce sont des éléments à haute densité qui appartiennent en grande partie au groupe de transition du tableau périodique, certains les définissent comme tous les éléments métalliques à partir de la quatrième période du tableau entre le cuivre (Cu) et le plomb (Pb). La plupart de ces métaux sont aussi appelés les éléments traces métalliques (ETM), leur concentration est inférieure à 0.1 % ce qui souligne leur relativement faible abondance dans les sols (Vries et al., 2002). Les éléments qui sont généralement ainsi considérés comprennent Arsenic (As), Cadmium (Cd), Cobalt (Co), Chrome (Cr), Cuivre (Cu), Mercure (Hg), Molybdène (Mo), Nickel (Ni), Plomb (Pb), Sélénium(Se), Zinc (Zn). Certains de ces ETM sont des appelés micronutriments, ce qui indique leur nécessité en faibles quantités aux organismes vivants. Ils sont nécessaires à la nutrition des plantes car ils interviennent dans les réactions métaboliques et les processus physiologiques (Cun, 2013).

I.2.1 Sources des métaux lourds dans l'environnement :

Les ETM tels que le plomb, le cadmium, le cuivre et le mercure posent un problème majeur car ils ne peuvent pas se dégrader naturellement, ce qui entraîne leur persistance prolongée dans les sols. Leur présence dans les sols peut être soit d'origine naturelle, soit due à l'activité humaine (Krika, 2014). Les sources de métaux lourds comprennent :

I.2.1.1 Origine naturelle :

Les métaux lourds sont présents à l'état de trace de façon naturelle dans les sols, selon leurs caractéristiques géologiques désigné par le fond pédogéochimique naturel. Il correspond à la concentration d'un élément chimique dans le sol, résultant des évolutions naturelles géologiques en dehors de tout apport d'origine humaine.

La source naturelle la plus importante des métaux lourds est le matériau géologique parent ou les affleurements rocheux. La composition et la concentration des métaux lourds dépendent du type de roche et des conditions environnementales, qui activent le processus d'altération (Sharma et al., 2005). Le dégazage de la croûte terrestre, les rejets des volcans et l'évaporation des plans d'eau naturels sont les principales sources naturelles des métaux lourds (Kapoor et al., 2021).



Activités volcanique peuvent libérer des métaux lourds



L'érosion des sols par l'eau

Figure 1 : Quelques sources naturelles des métaux lourds (ETM)

I.2.1.2 Origine anthropique :

Les concentrations mesurées dans les sols sont principalement dues à des émissions d'origine humaine. Au cours des dernières décennies, la quantité de métaux lourds déposés dans les sols à travers le monde a augmenté, atteignant actuellement environ 22 000 tonnes de cadmium, 939 000 tonnes de cuivre, 783 000 tonnes de plomb et 1 350 000 tonnes de zinc. Cependant, il est important de noter qu'entre 1990 et 2007, les émissions de certains métaux lourds ont considérablement diminué. Par exemple, les émissions de plomb ont chuté de 97 % en raison de son retrait de l'essence, le chrome de 90 %, le zinc de 86 % et le mercure de 70 %. Seules les émissions de cuivre n'ont diminué que de 4,5 % en raison de l'augmentation continue du trafic routier et ferroviaire (Chaouche, 2020). Cette évolution démontre les efforts entrepris pour réduire les émissions de métaux lourds, notamment en ce qui concerne le plomb, le chrome, le zinc et le mercure. Cependant, malgré ces progrès, la présence de ces métaux dans les sols reste préoccupante en raison de leur toxicité et de leur capacité à s'accumuler dans l'environnement.

I.2.1.2.1 Les sources agricoles :

L'agriculture intensive fait appel à l'utilisation abusive des fertilisants et des produits phytosanitaires, employés pour augmenter les rendements et pallier au manque d'éléments nutritifs. Ils sont considérés comme des polluants agricoles de premier rang. Ils contiennent des ETM tels que le cuivre, principal composant de dans la bouillie bordelaise, ou encore le plomb dans les pesticides, des éléments toxiques sont aussi présents dans les lisiers tels que le (Cu, Zn et le Cd), ainsi que les engrais qui contiennent du manganèse et du Cd dans les engrais phosphatés. Cette contamination est causée par des apports directs gérés au niveau de la parcelle

agricole ou de son environnement proche, qui se produisent par le ruissellement des eaux (Rkika, 2014).

I.2.1.2.2 Les sources urbaines :

Les sources de contamination des sols par les métaux lourds, associées aux milieux urbains, sont essentiellement ;i) l'épandage des boues provenant des stations d'épuration ou du curage des canalisations, ce qui entraîne un apport de Cr, Cu et de Pb ; ii) l'incinération des déchets domestiques contribue à l'apport de Cd ; iii) le trafic routier qui entraîne l'apport de zinc, de cadmium lors de la combustion des carburants et du Pb utilisé comme antidétonant (Rkika, 2014).

I.2.1.2.3 Les sources industrielles :

Les activités industrielles sont nombreuses et très variées, elles rejettent beaucoup de déchets toxiques sous forme de gaz, d'eaux usées ou de poussière. Ce sont principalement les industries métallurgiques qui contaminent les sols, telles que le traitement des minerais, l'exploitation minière, le raffinage et l'élaboration d'alliages ou d'acier. D'autres processus industriels plus avancés comme le recyclage du plomb des batteries ou la fabrication de peintures, libèrent dans l'environnement tous les éléments métalliques. La majeure partie de ces émissions retombent sous forme de poussières à proximité du site industriel émetteur, généralement dans un rayon de 3 à 5 km (Chaouche, 2020).



Exploitation minière (traitement de minerais de cuivre)



Centrale électrique à combustible fossile

Figure 2 : Quelques sources anthropiques des métaux lourds (ETM)

I.2.2 Les métaux lourds dans les plantes :

Certains métaux lourds, tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le nickel (Ni), le fer (Fe), le cobalt (Co), le sélénium (Se) et le baryum (Ba), jouent un rôle dans des processus moléculaires. Ils interviennent dans la régulation de l'expression des gènes, la biosynthèse des

protéines, des acides nucléiques, des substances de croissance, de la chlorophylle et des métabolites secondaires, le métabolisme lipidique et la tolérance au stress (Remon, 2006).

Le reste des métaux lourds peuvent induire des effets négatifs sur la santé végétale en interférant avec plusieurs mécanismes physiologiques. D'une part, l'absorption des nutriments du sol, la photosynthèse, la germination, la division cellulaire et la croissance sont fortement affectés par cette pollution. D'autre part, les métaux présents sous forme de cations peuvent entrer en compétition avec d'autres cations du sol qui servent de nutriments essentiels pour la plante (calcium, potassium, magnésium...). L'absorption des métaux lourds entraîne ainsi des perturbations lors de l'absorption des cations du sol, modifiant ainsi le métabolisme biochimique de la plante. Guo Yu et al., (2019) mentionnent que ces métaux lourds sont des éléments non essentiels à la croissance des plantes, tels que le cadmium, le plomb, le chrome, l'arsenic, le mercure, etc. Lorsque la concentration en métal est plus élevée, cela aura un effet toxique sur les plantes. De plus, il y a deux aspects sur l'interaction des plantes à des métaux lourds, d'une part, les métaux lourds montrent des effets négatifs sur les plantes et d'autre part, les plantes ont leurs propres mécanismes de résistance contre les effets toxiques et pour détoxifier la pollution par les métaux lourds (Asati et al., 2016).

Les plantes développent des stratégies adaptatives en réponse à la présence de polluants dans leur environnement :

- **La stratégie d'évitement** : ce mécanisme limite l'absorption des métaux lourds et interdit leur entrée dans les tissus des plantes par les cellules racinaires. La stratégie d'évitement est la première ligne de défense qui fonctionne principalement au niveau extracellulaire à travers divers mécanismes tels que l'immobilisation par association mycorhizienne, la complexation par les exsudats racinaires et la modification du pH de la rhizosphère, l'exsudation d'acides organiques liant les métaux ou la formation d'une barrière redox (Dalvi et al., 2013). De nombreuses plantes possèdent des mécanismes exclusifs classés comme mécanismes de tolérance vis-à-vis de certains ions métalliques. Pendant cela, les ions métalliques sont séquestrés dans des compartiments protégeant les composants sensibles des cellules des interactions avec les métaux lourds (Ghori et al., 2019).
- **La stratégie de tolérance** : la tolérance des plantes aux métaux lourds varie d'une espèce à l'autre. Dans certains cas, les ions métalliques peuvent traverser la barrière protectrice de la plante et pénétrer dans les cellules. Les facteurs responsables de la

détoxification rapide et efficace des métaux influencent la tolérance des plantes aux métaux. Ces facteurs sont : la liaison des complexes métalliques avec différents ligands (chélation) et le transport et l'accumulation des complexes dans les vacuoles (Jutsz, et al., 2015).

I.2.2.1 La phytodisponibilité des métaux lourds :

La phytodisponibilité se réfère à la forme facilement disponible d'un métal lourd, qui est absorbé par les plantes. Ainsi, il est très important de diminuer l'accessibilité et la disponibilité des métaux lourds pour les plantes dans les sols contaminés (Al-Wabel et al., 2015). La phytodisponibilité implique trois processus successifs : i) le premier processus est la libération des éléments de la phase solide vers la solution du sol ; ii) le deuxième processus concerne le déplacement de l'élément vers les surfaces racinaires par diffusion ; iii) le dernier processus implique l'absorption du métal par les cellules racinaires, suivi de son transport et de sa distribution à l'intérieur de la plante (Testiati, 2012).

I.2.2.2 L'absorption des métaux lourds :

L'absorption de métaux lourds par les plantes dépend de plusieurs facteurs, y compris la concentration de métaux lourds dans le sol, le type de plante et le stade de croissance des plantes. Les plantes absorbent les métaux lourds par leurs racines et les accumulent dans diverses parties de la plante, les racines, les tiges, les feuilles et les fruits. L'absorption passive prédomine à une concentration élevée d'ions ($\geq 0,1$ mM), tandis que l'absorption active, qui utilise de l'énergie métabolique, passe en second plan. D'autres auteurs ont rapporté que, le Cd, le Cr (III), le Ni et le Pb sont absorbés de manière préférentielle par absorption passive. Tandis que l'absorption du Cu et du Zn se fait, de manière préférentielle, par absorption active ou par une combinaison d'absorption active et passive, car le Cu et le Zn sont tous deux des nutriments essentiels pour les plantes (Joner et al., 2001).

Ainsi, la phytoremédiation, qui implique l'utilisation de plantes pour éliminer ou dégrader les substances toxiques présentes dans l'environnement, suscite un vif intérêt dans la recherche. Les plantes capables d'absorber et de stocker les métaux lourds peuvent être utilisées pour éliminer ces polluants d'un écosystème donné (Li et al., 2015).

I.2.2.3 Translocation des métaux lourds :

Pour que les ETM soient transportés vers les parties aériennes, après absorption par les racines, ils sont conduits dans les vaisseaux du xylème. Des transporteurs de métaux participent à la détoxification des métaux en assurant le transport des cations métalliques ou des chélates métalliques du cytosol au compartiment vacuolaire. Une meilleure connaissance des mécanismes de transport des métaux dans les plantes est nécessaire pour comprendre et manipuler la nutrition des plantes et leur résistance aux métaux lourds toxiques (Thomine et al., 2000).

I.2.2.4 L'accumulation des métaux lourds :

Il existe des plantes capables d'absorber de grandes quantités de métaux lourds, elles sont dites « hyperaccumulatrices », on en recense plus de 400 espèces. Papoyan et Kochian (2019), ont rapporté que certains écotypes de *Thlaspi caerulescens* peuvent accumuler du Zn et du Cd à des niveaux extrêmement élevés. Dans les tiges, le Zn atteint des niveaux pouvant avoisiner 30 000 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ et des concentrations de 10 000 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dans les tiges, les concentrations foliaires de Cd supérieures à 1 à 10 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sont habituellement toxiques. Ainsi, l'hyperaccumulation, définit une plante qui présente des concentrations foliaires (par kg de matière sèche) supérieures aux seuils suivants : 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ pour le Cd, le sélénium (Se) et le thallium (Tl) ; 1000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ pour l'As, le chrome (Cr), le cobalt (Co), le cuivre (Cu), le nickel (Ni) et les terres rares (REE) ; 3000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ pour le zinc (Zn) ; et 10 000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ pour le manganèse (Mn) (Li et al., 2018).

I.2.3 Les métaux lourds à risque de contamination :

Les métaux lourds sont des contaminants extrêmement dangereux dans divers milieux de l'environnement. En raison de leur grande persistance, de leur haute écotoxicité et de leur caractéristique non dégradable, et leur potentiel de bioaccumulation à travers les chaînes alimentaires, présentant des risques potentiels pour l'écosystème et l'être humain. Les niveaux d'absorption adéquats pour l'organisme vivant de ces ETM sont définis dans le tableau suivant selon Minghui Hao et al., (2022) : (Fe 8-18 mg/jour, Mn 1,8-2,3 mg/jour, Cu 0,9 mg/jour, Zn 8-11 mg/jour, Ni 0,5 mg/jour). Toutefois, des carences et des effets toxiques sont observables. Une forte supplémentation de Fe et de Mn provoque des événements pathologiques tels que le dépôt d'oxydes de fer dans la maladie de Parkinson. Le surplus de Cu a été associé à des dommages au foie et le Zn peut produire des interactions néfastes avec le Cu. En outre, le Zn

réduit la fonction immunitaire et les niveaux de lipoprotéines de haute densité. D'autres métaux comme Pb et Cd sont toxiques même à faible concentration (Harmanescu et al., 2011). Le tableau ci-dessous présenté des métaux classés en groupes selon le risque potentiel pour la chaîne alimentaire via l'absorption par les plantes (Rodriguez, et al., 2018) :

Tableau 1 : métaux classés en groupes selon le risque potentiel pour la chaîne alimentaire via l'absorption par les plantes

Groupe 01 :	Groupe 02	Groupe 03	Groupe 04
Argent (Ag)	Mercure (Hg)	Bore (B)	Arsenic (As)
Chrome (Cr)	Plomb (Pb)	Cuivre (Cu)	Cadmium (Cd)
Etain (Sn)		Manganèse (Mn)	Cobalt (Co)
Titane (Ti)		Molybdène (Mo)	Molybdène (Mo)
Yttrium (y)		Nickel (Ni)	Sélénium (Se)
Zirconium(Zr)		Zinc (Zn)	Thallium (Tl)

Groupe I : Les éléments de ce groupe présentent un faible risque de contamination de la chaîne alimentaire car ils sont peu absorbés par les plantes et s'accumulent moins dans les parties comestibles.

Groupe II : Les éléments de ce groupe sont fortement absorbés par les plantes, mais ils sont peu transmis aux parties comestibles, ce qui limite les risques pour la santé humaine. Cependant, ils peuvent représenter un danger pour les animaux qui se nourrissent des plantes ou en cas d'ingestion de sol contaminé.

Groupe III : Les éléments de ce groupe sont facilement absorbés par les plantes, mais ils sont toxiques pour les plantes à des concentrations généralement sans risque pour la santé humaine.

Groupe IV : Les éléments de ce groupe présentent le plus grand risque de contamination de la chaîne alimentaire car ils sont dangereux pour la santé humaine ou animale à des concentrations qui ne sont généralement pas toxiques pour les plantes

I.2.4 Le plomb

I.2.4.1 Définition

Le plomb, de symbole Pb et de numéro atomique 82, est un élément chimique appartenant au groupe des cristallogènes. Son nom et son symbole dérivent du latin plumbum. Il s'agit d'un métal de couleur gris bleuâtre qui tend à se décolorer lentement en s'oxydant. Il est malléable mais présente une toxicité écologique et environnementale, même à de faibles doses. Les maladies et les symptômes qu'il provoque chez les humains et les animaux sont

regroupés sous le terme de saturnisme. Actuellement, le plomb est principalement utilisé à hauteur de 86 % dans la fabrication de batteries au plomb-acide pour les véhicules. Il a également été utilisé comme pigment et comme additif antidétonant dans l'essence sous forme de tétraéthylplomb (Foucault et al., 2012).



Figure 3: l'élément métallique du plomb et sa classification dans le tableau périodique (Menaâ ,2023).

I.2.4.2 Propriétés physiques et chimiques du plomb

Selon Pourrut, (2008), le plomb, se trouve généralement en petite quantité dans la croûte terrestre. Il présente deux électrons non appariés sur sa couche électronique externe. Cette configuration électronique permet des degrés d'oxydation de (+2) et (+4), en plus de l'état métallique (0). Le plomb est rarement sous sa forme élémentaire. Il existe sous forme métallique, inorganique et organique. Il prend une forme inorganique lorsqu'il est associé à certains composés pour former les sels du plomb. Les plus rencontrés, sont ceux de chlorures, du chromate, du nitrate, des phosphates et des sulfates (Kadi ,2013) Les caractéristique physico-chimique du plomb sont données dans le tableau ci-dessous (Laperche et al., 2004)

Tableau 2 : Principales propriétés physico-chimiques du plomb

plomb	propriétés
Formule	Pb
N° CAS	7439-92-1
Etat Physique	Solide
Aspect	Gris-bleuâtre très mou, malléable
Solubilité	Insoluble dans l'eau. Soluble dans l'acide nitrique dilué et l'acide sulfurique concentré et bouillant.

Masse molaire	207,2
Point de fusion	326 à 327,5 °C
Point d'ébullition	1740 à 1749 °C (à la pres. atm.)
Densité	11,35 à 20 °C
Pression de vapeur	0,133 kPa à 980 °C 53,3 kPa à 1600 °C
Numéro atomique	82
Configuration électronique	[Xe] 4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ² 6p ²
Valences	0. +2. +4
Rayons ioniques (Å)	
<i>Pb</i> ²⁺	0,94 à 1,49
Pb ⁴⁺	0,78 à 0,94

I.2.4.3 Utilisation de plomb :

Depuis l'antiquité, le plomb a été largement utilisé dans les activités métallurgiques. Avec le développement et la révolution industrielle, la production et l'utilisation du plomb ont considérablement augmenté, entraînant la libération de quantités massives de ce métal non biodégradable et son accumulation importante dans l'environnement.

L'utilisation des pigments au plomb dans les peintures était une source majeure de dispersion du plomb depuis la fin du XIX^e siècle jusqu'à une période récente (Olivier et al., 1999). Le plomb est également utilisé dans la fabrication de tuyaux et de pigments. Il est utilisé comme additif dans les peintures anti-pollution, ainsi que dans l'industrie de la céramique et des matériaux de construction. Enfin, le plomb est également utilisé comme additif dans les carburants, certaines batteries et composants électriques, et parfois dans les médicaments et les produits cosmétiques.

I.2.4.4 Biogéochimie de Plomb

Le plomb présent dans les roches peut se retrouver dans les sols par le biais de leur altération, avec des concentrations variables en fonction de la composition initiale de la roche d'origine. Parallèlement, il est également présent dans tous les autres éléments de l'environnement tels que l'eau, l'air et même les êtres vivants (figure 4). La localisation et la forme chimique du plomb dans l'environnement peuvent varier en raison de phénomènes naturels ou de l'intervention humaine. Ainsi, un véritable cycle biogéochimique du plomb se

produit, tout comme il existe des cycles pour les éléments majeurs et les autres éléments traces. Au cours de ce cycle, le plomb se déplace d'un compartiment à un autre et change de forme chimique sous l'influence de processus naturels ou aux activités humaines (Cecchi., 2008).

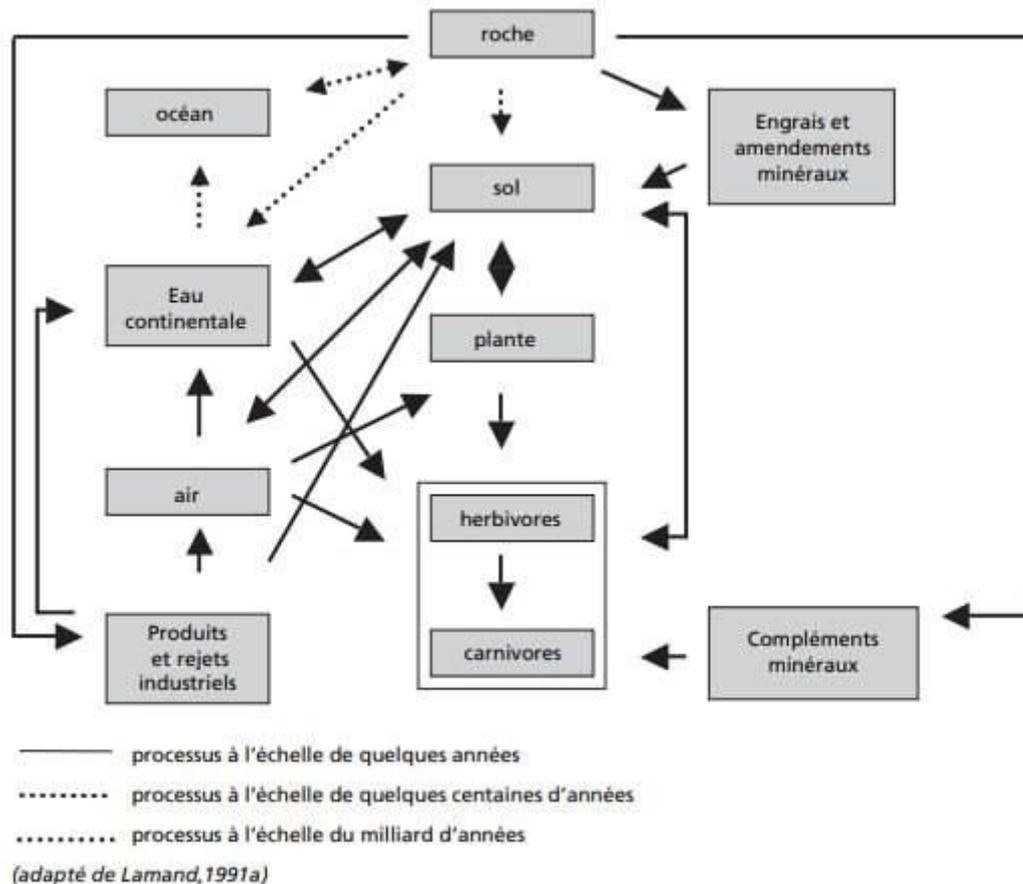


Figure 4 : cycle biogéochimique des éléments traces métalliques (ETM) (Bouziani ,2021)

I.2.4.5 Contamination de l'environnement par le plomb :

Le plomb (Pb) représente 12,5 (ppm) de la croûte terrestre (avec une concentration de 20 ppm dans les granites et de 5 ppm dans les basaltes). Cette quantité le positionne, parmi les métaux industriels, entre le cuivre (35 ppm) et l'étain (2ppm) (Fouassier et al., 2012). Les intoxications massives aiguës et chroniques ont été bien étudiées dans le milieu professionnel. Le plomb, comme polluant environnemental, est présent dans les sols et l'atmosphère au voisinage de sites industriels (Jeanne et al, 2022). Selon Ineris, (2015) la diversité des sources d'émission et la non substituabilité du plomb pour l'une de ses principales applications dans la fabrication de batteries automobiles, rendent très difficile l'élimination de tous les rejets à court terme. Cependant, des mesures sont mises en place pour se rapprocher autant que possible de cet objectif, notamment en matière d'efficacité, de recyclage de divers produits (par

l'amélioration de la sélectivité des procédés de recyclage, augmentation du taux de recyclage des batteries au plomb) et de capture et traitement des rejets de certains secteurs industriels, tels que l'industrie des métaux et de la peinture.

I.2.4.6 Écotoxicologie du Plomb :

Entre 1950 et 2000, les émissions de plomb dans l'environnement ont connu une augmentation importante en raison de l'utilisation du tétraéthylplomb comme additif dans l'essence. En conséquence de cette utilisation croissante, ce métal persistant s'accumule dans tous les compartiments et niveaux des écosystèmes. L'utilisation du plomb dans l'environnement a eu un impact négatif sur la santé humaine et les écosystèmes, car il s'accumule dans l'eau, le sol et les organismes vivants (ZAIDI, 2022). Les principales voies d'absorption dans le corps humain sont l'inhalation, l'ingestion et, dans une moindre mesure, le contact cutané. L'inhalation de vapeurs et de poussières est la voie d'exposition principale pour les personnes qui manipulent le plomb (OMS, 2017).

Les effets toxiques du plomb sont répandus et touchent pratiquement tous les systèmes du corps humain. L'intoxication au plomb provoque le « saturnisme », qui se traduit par des concentrations élevées de plomb dans le sang, causant des troubles du langage, du comportement, troubles des apprentissages, ralentissement de la croissance, difficultés motrices, baisse modérée de l'acuité auditive. D'autres conséquences importantes sur la santé publique sont les dommages au niveau du développement neurologique chez les enfants et les maladies cardiovasculaires chez les adultes. De plus, la relation dose-réponse pour la toxicité du plomb présente une variation importante entre les individus, et les signes et symptômes peuvent varier considérablement chez les adultes et les enfants. Les effets toxiques du plomb peuvent inclure des problèmes gastro-intestinaux, hématologiques, neurologiques, rénaux, ainsi que des atteintes du système reproducteur, immunitaire, endocrinien et cardiovasculaire (OMS, 2022).

I.2.4.6.1 Phytotoxicité du plomb et son effet sur la physiologie végétale :

Le plomb fait partie des principaux métaux lourds qui contaminent le sol en raison des processus de fusion, d'extraction minière et des phénomènes météorologiques naturels (Ashraf et al., 2015). Les symptômes non spécifiques de la toxicité du Pb sont une croissance retardée, la chlorose et une réduction de la longueur des racines. Une fois pénétré dans la cellule, le Pb modifie la perméabilité de la membrane cellulaire, provoque des changements hormonaux, inhibe diverses enzymes contenant des groupes sulfhydryle, réduit la teneur en eau et perturbe

la nutrition minérale. Chez les plantules, la toxicité du Pb entraîne une croissance retardée et inhibe la germination. Les plantes exposées à une toxicité au plomb ont leur voie photosynthétique affectée négativement car elle perturbe l'ultrastructure des chloroplastes et bloque la synthèse de pigments essentiels tels que la chlorophylle et les caroténoïdes, en plus du plastoquinone. De plus, elle bloque le cycle de Calvin et la chaîne de transport des électrons et entraîne une diminution des concentrations de dioxyde de carbone en fermant les pores stomatiques (Sharma et Dubey, 2005).

II. Le stress oxydant et systèmes antioxydants :

II.1 Le stress oxydatif

Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées réactives (EOR), en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants (Koechlin, 2006). Ces espèces sont responsables, d'une manière directe ou indirecte, de nombreux dommages oxydatifs au niveau moléculaire (acides nucléiques, protéines, lipides...) (Barouki, 2006). Les raisons qui causent un stress oxydatif incluent principalement :

- (i) Un déséquilibre entre la génération de ROS et la détoxification en raison d'une perturbation de la physiologie cellulaire « normale »
- (ii) La biosynthèse de ROS de nouveau en tant que composante de la signalisation du stress et de la réponse immunitaire nécessaires à la défense et à l'adaptation. Ces mécanismes coexistent, car les facteurs de stress produisant directement des ROS (métaux de transition, rayonnement ultraviolet ou ozone) stimulent également la génération de ROS par les NADPH oxydases et les peroxydases (Demidchik, 2015).

Les métaux lourds ont été présentés comme augmentant le stress oxydatif, entraînant une surproduction d'ERO qui dépasse la capacité antioxydant cellulaire (Pinho et al., 2012). Les métaux lourds, en fonction de leur capacité de rédox, peuvent générer des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Le cuivre et le chrome, en tant que métaux rédox actifs, peuvent produire des radicaux hydroxyles, qui sont la forme la plus toxique d'ERO. Cependant, le stress oxydatif n'est pas uniquement causé par les métaux lourds rédox actifs. Les métaux sans capacité rédox, comme le cadmium, le plomb, le zinc et le nickel, perturbent le processus photosynthétique et entraînent une augmentation de la production d'oxygène singulet et de superoxyde dans les cellules (Juknys et al., 2012).

II.1.1 Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène :

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des molécules dérivant de la réduction de l'oxygène elles comprennent par exemple l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou les radicaux hydroxyles (HO^{\cdot}) (Bailly et al., 2008). En parallèle de la production d'ERO par le complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire, la plupart des cellules sont capables de produire des radicaux superoxydes $O_2^{\cdot-}$ via une activité NADPH oxydase membranaire (NOX). La NOX est une enzyme qui catalyse la réduction monoélectronique de l' O_2 en utilisant le NADPH ou le NADH comme donneur d'électrons (figure 6) (Migdal and Serres, 2011).

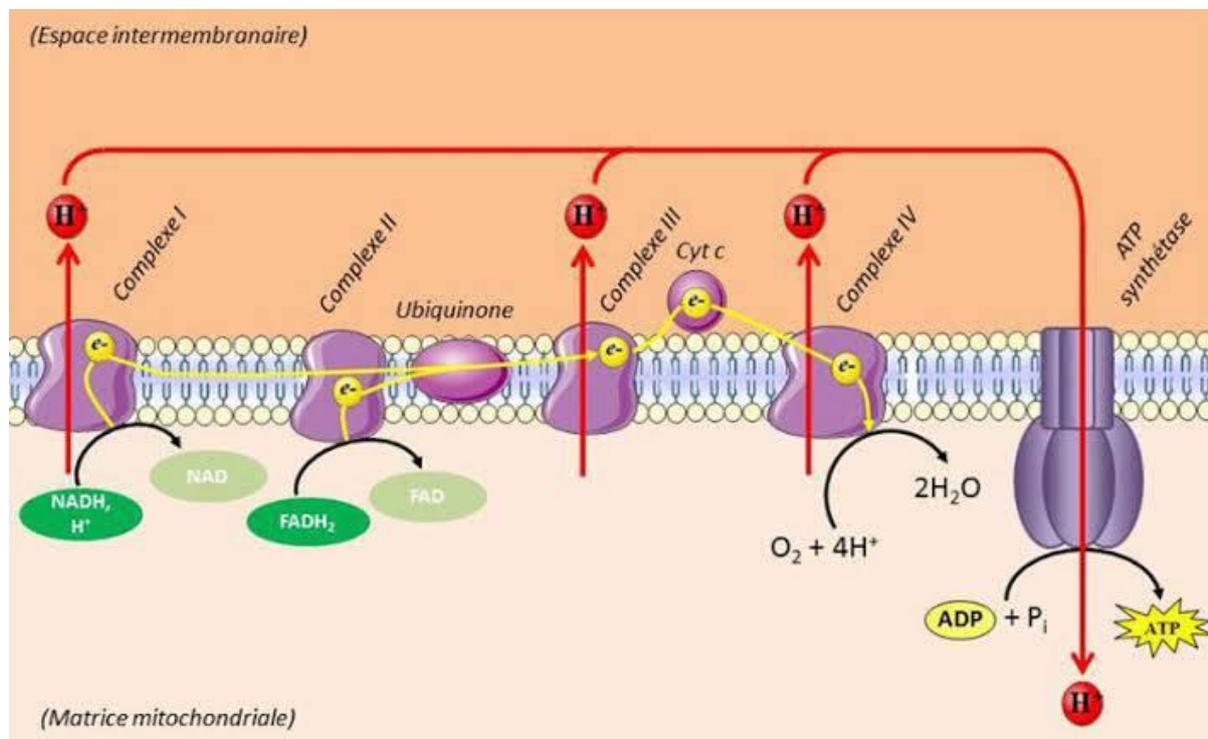
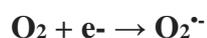


Figure 5 : schéma de la chaîne respiratoire (Hamon, 2018) Complexe I : NADH coenzyme Q réductase ; complexe II : succinate-coenzyme Q réductase ; complexe III : coenzyme Q-cytochrome c réductase ; complexe IV : cytochrome c oxydase.

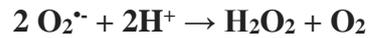
L'anion superoxyde, est produit au cours d'une variété de réactions intracellulaires de réduction de l'oxydation par la réduction univalente de l'oxygène moléculaire. Le superoxyde peut alors générer du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Handin et al., 1977) :

L'équation chimique générale pour la formation du superoxyde est la suivante :



Dans cette réaction, un électron (e-) est transféré à une molécule d'oxygène (O₂) pour former un anion superoxyde (O₂•-). Cela se produit généralement dans des processus de réduction où l'oxygène moléculaire est réduit à un anion superoxyde (Garait, 2006).

Une réaction courante implique la dismutation du superoxyde, qui donne à la fois du peroxyde d'hydrogène et de l'oxygène moléculaire (Gerstel, 2015)



II.1.2 Conséquences biologiques de stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier, 2003).

II.1.2.1 Altération des lipides

La peroxydation lipidique fait référence à l'ensemble des processus non enzymatiques de dégradation oxydative non spécifique des lipides. Ce mécanisme affecte principalement les composants membranaires tels que les acides gras polyinsaturés (-CH=CH-CH₂-CH=CH-), il en résulte la production du malondialdéhyde, un composé toxique responsable de l'altération des membranes cellulaires, de la fluidité des membranes, de l'activité enzymatique et des récepteurs membranaires (Bensakhria, 2018).

II.1.2.2 Altération des protéines

Les protéines sont sensibles aux espèces réactives de l'oxygène (ERO). Celles qui possèdent des groupements sulphydryle (SH), tels que de nombreuses enzymes et protéines de transport, sont particulièrement touchées. L'oxydation de ces groupements provoque une dégradation irréversible des protéines en générant la formation de groupements carbonyles sur les chaînes latérales de certains acides aminés (Durand et al., 2012). Ces altérations structurales ont souvent pour conséquence de modifier la solubilité des protéines et d'entraîner leur agrégation, ce qui peut contribuer au développement de certaines pathologies (Jaisson et al., 2017).

II.1.2.3 Altération des acides nucléiques :

L'ADN est une cible privilégiée des espèces réactives de l'oxygène (ERO), et l'ADN mitochondrial (ADNmt) est plus exposé à l'oxydation que l'ADN nucléaire (ADNn). Cela est dû à sa proximité avec la chaîne respiratoire mitochondriale, qui génère les ERO. On observe ainsi 2 à 3 fois plus de bases oxydées au niveau de l'ADNmt par rapport à l'ADNn. Cette interaction entraîne des cassures à simple et double brin de l'ADN, l'oxydation des bases, des interactions protéines-ADN, ainsi que la formation de sites abasiques et d'adduits intra-caténaux (Cadet et al., 2002).

II.1.3 Mécanismes de détoxification des espèces réactives de l'oxygène :

Les plantes sont dotées d'une gamme de mécanismes de défense antioxydants pour détoxifier les effets nocifs des ERO et les acclimater à diverses conditions environnementales défavorables. Le mécanisme de défense antioxydant est composé des antioxydants enzymatiques (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase, glutathion réductase) et des antioxydants non enzymatiques (glutathion, proline, α -tocophérols, caroténoïdes et flavonoïdes (Dar et al., 2017).

II.1.3.1 Mécanismes enzymatiques :

Le système de défense antioxydant dans la plante comprend plusieurs enzymes différentes. Elles sont principalement impliquées dans des réactions qui réduisent le H₂O₂ et utilisent le potentiel de réduction de NADPH (Rajput et al., 2021). Elles se distinguent en enzymes antioxydantes primaires telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), qui neutralisent les radicaux libres ; et les enzymes antioxydantes secondaires telles que la déshydroascorbate réductase (DHAR) et la glutathion réductase (GR) qui régénèrent l'acide ascorbique et le glutathion (Chehrit-Hacid, 2016).

II.1.3.1.1 Superoxyde dismutase SOD :

Les SOD constituent la première ligne de défense contre les dommages provoqués par les espèces réactives d'oxygène (ERO). Ces protéines catalysent la démultiplication du radical libre de superoxyde anionique (O₂⁻) en oxygène moléculaire et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et diminuent le niveau d'O₂ qui endommage les cellules à une concentration excessive (Younus, 2018).

Elles existent sous deux formes différant par leur métal cofacteur et par leur localisation : la SOD Cu/Zn cytosolique (SOD1), nucléaire et peroxysomique, et la SOD Mn strictement mitochondriale (SOD2) (Becuwe et al., 2018).

II.1.3.2 Ascorbate peroxydase (APX) :

L'APX est une peroxydase de classe I, elle a une affinité élevée pour le H₂O₂ et utilise l'ascorbate (AsA) comme donneur d'électrons spécifique pour la réduction du H₂O₂ en H₂O. Elle est présente dans les organites, y compris les chloroplastes, le cytosol et les mitochondries (Anjum et al, 2016).

Des isoenzymes d'APX sont distribuées dans les compartiments cellulaires comme suit : l'APX du stroma (sAPX) ; l'APX liée à la membrane thylakoïde (tAPX) dans les chloroplastes (chAPX) ; l'APX liée à la membrane (mAPX) et l'APX cytosolique (cytAPX) (Shigeoka et al., 2002).

II.1.3.3 La glutathion S-transférase :

Les GST sont impliquées dans la phase II de la détoxification de divers sous-produits métaboliques endogènes et de produits chimiques environnementaux, y compris les métaux lourds (arsenic inorganique, mercure inorganique-HgCl₂, MeHg) (Goodrich et al., 2012). En outre, le niveau d'expression des isoenzymes de la GST peut être modifié par l'exposition à divers xénobiotiques (Stone et al., 2002).

II.1.3.4 La catalase :

La catalase joue un rôle central dans le maintien de l'équilibre du peroxyde d'hydrogène cellulaire dans les plantes. Il s'agit de la première enzyme antioxydante documentée et elle est présente chez tous les procaryotes et les eucaryotes (Anjum et al., 2016). Cette enzyme catalyse également la réduction de H₂O₂ en eau et en oxygène moléculaire. Elle est localisée dans les mitochondries et les peroxysomes, et absente dans les chloroplastes (Singh et al., 2010).

II.1.3.2 Mécanisme non enzymatiques :

Les systèmes non enzymatiques antioxydants sont représentés principalement par des composés de bas poids moléculaire soit solubles comme le glutathion réduit (GSH) et l'acide ascorbique (ASC), soit lipophiles comme les caroténoïdes et les tocophérols (Marok, 2014).

III. *Vigna unguiculata* intérêts agronomiques et économiques

Le niébé (*Vigna unguiculata* L.) est une légumineuse à graines d'une grande importance dans les zones de la savane tropicale d'Afrique. Originnaire d'Afrique de l'Ouest, sa culture s'est répandue à travers le monde. Elle est cultivée et consommée en Asie, en Amérique du Sud et en Amérique centrale, dans les Caraïbes, aux États-Unis, au Moyen-Orient et en Europe australe (Adamou et al., 2019).

D'après Brice et al., (2016), le niébé (*Vigna unguiculata*) joue un rôle essentiel dans l'alimentation en Afrique de l'Ouest en raison de ses nombreux avantages nutritionnels. Les graines de niébé sont particulièrement précieuses en raison de leur teneur élevée en protéines et en acides aminés soufrés, ce qui en fait un complément nutritionnel bénéfique pour les régimes alimentaires qui manquent de protéines. De plus, les parties aériennes du niébé, telles que les tiges et les feuilles, peuvent être récoltées et séchées pour servir d'excellent fourrage pour les animaux pendant la période de sécheresse. Ainsi, le niébé offre une double utilité en tant que source de nutrition humaine et animale. En effet, le niébé joue un rôle significatif en fournissant une importante source de vitamines et de minéraux. Toutefois, sa productivité est généralement très limitée, représentant seulement 18% à 30% de matière sèche. Malgré son importance, le rendement du niébé reste généralement faible, allant de 100 à 350 kg/ha, en raison de multiples contraintes biotiques et abiotiques (Gougbe et al., 2020).

Le niébé présente un avantage majeur par rapport au haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L), à savoir sa tolérance à la chaleur et son adaptation optimale à toutes les saisons de culture. Cependant, il y a eu très peu de recherches axées sur l'amélioration des conditions de production et l'adaptation des variétés de niébé (Coulibaly et al., 2020) .

Chapitre II

Matériels et Méthodes

Dans le cadre de notre projet de fin d'étude, nous avons réalisé une série d'expérimentation au laboratoire d'écologie à la faculté des sciences de l'Université M'Hamed Bougara Boumerdès (UMBB). Cette étude visait à évaluer l'effet de deux concentrations de plomb sous forme d'acétate de plomb sur les paramètres morphologiques et physiologiques de la plante du niébé *Vigna unguiculata*, ainsi qu'à examiner sa capacité potentielle de tolérance à un stress oxydatif due à un facteur abiotique.

I. Matériel

I.1. Matériel végétal :

Le modèle végétal de choix pour la réalisation de notre étude est *Vigna unguiculata*, connue aussi sous le nom du niébé ou la dolique à œil noir. Originnaire d'Afrique, cette plante est largement cultivée dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales du monde pour sa valeur nutritionnelle (Archimede et al., 2018). Le niébé est riche en protéines, en fibres alimentaires, en vitamines (notamment les vitamines A et C) et en minéraux tels que le fer et le calcium, il est également utilisé comme plante fourragère (Remond and Walrand, 2017).

I.1.1. Description de modèle biologique :

Vigna unguiculata L. est une plante appartenant à la famille des Fabacées anciennement appelées légumineuses. Très appréciée pour sa richesse nutritionnelle en protéines, en fibres alimentaires, en vitamines (notamment les vitamines A et C) et en minéraux tels que le fer et le calcium. (Taffouo et al., 2008). C'est une plante herbacée, qui peut se présenter comme une annuelle ou une vivace, avec une croissance grimpante, rampante ou plus ou moins érigée qui peuvent atteindre une longueur de 2 à 4 mètres. Les feuilles sont trifoliées, c'est-à-dire qu'elles sont composées de trois folioles ovales de couleur vert foncé. La plante présente également des vrilles qui lui permettent de s'accrocher et de grimper sur les supports disponibles.

Les fleurs sont petites, généralement de couleur blanche ou violet pâle, et sont regroupées en grappes terminales. Elles donnent ensuite naissance à des gousses de forme cylindrique ou légèrement incurvée, mesurant environ 15 à 30 centimètres de long. Ces gousses renferment généralement de 6 à 14 graines, de forme ronde à ovale, avec une peau dure de couleur variable selon les variétés, allant du blanc au noir ou même au marron foncé. Elle est généralement cultivée en tant qu'annuelle.

Cette espèce est adaptée aux saisons chaudes et nécessite des températures minimales d'environ 18 °C à toutes les étapes de son développement. La température optimale de croissance du niébé se situe autour de 28°C (Ghalmi, 2011).

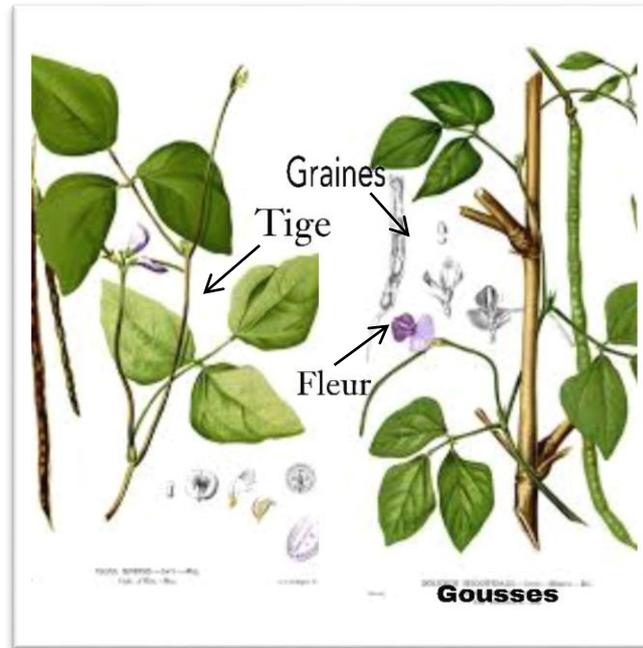


Figure 6 : Schéma illustrant la morphologie générale des plantes de *Vigna unguiculata* (Fr. Manuel Blanco, 1837)

I.1.2. Classification phylogénique *Vigna unguiculata* selon APG III

Tableau 3 : Classification de *Vigna unguiculata* APG III (2009)

Clade	<i>Spermaphytes</i>
Clade	<i>Angiospermes</i>
Clade	<i>Eudicotylédones</i>
Clade	<i>Rosidées</i>
Super ordre	<i>Eurosidées</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Genre	<i>Vigna</i>
Espèce	<i>Vigna unguiculata</i>



I.2. Le support de culture

La culture des graines de *V. unguiculata* a été réalisée en utilisant deux concentrations d'acétate de plomb, à savoir 1 mM et 2 Mm. Les expériences ont été réalisées dans des pots d'une contenance de ½ litre, remplis de gravier pour un meilleur drainage et d'un mélange composé de 1/3 de sable et 2/3 de terreau.

II. Méthodes d'études

II.1. Démarche expérimentales

II .1.1 Sélection des grains :

Afin d'obtenir des résultats uniformes en termes de germination et de caractères morpho-physiologiques des plantules, les grains ont été triés. Seules les graines saines, de couleur uniforme et de même taille ont été sélectionnées.

II.1.2. germination

II .1.2.1. Stérilisation des grains de niébé :

Avant la germination, les graines sont ensuite rincées avec de l'eau javellisée (NaClO) pour les désinfecter et éviter toutes contaminations lors de la mise en culture.

II .1.2.2. Mise en germination :

Chaque lot de 50 graines, une fois imbibées, est placé pour germer dans des plateaux recouverts de quatre couches de papier absorbant et recouverts de papier film. L'imbibition est effectuée de manière régulière, en utilisant de l'eau distillée. La germination est réalisée dans une étuve maintenue à une température optimale de 26°C.



Figure 7 : Stérilisation des graines dans l'eau javel



Figure 8 : placement des graines dans les plateaux



Figure 9 : La germination des graines

II .1.3 Préparation des solutions

Afin d'étudier les effets du plomb (sous forme d'acétate de plomb) sur les plantes de *Vigna unguiculata*, nous avons préparé les solutions suivantes (tableau 4). Les concentrations utilisées ont été sélectionnées après une étude bibliographique.

Tableau 4 : Concentrations des solutions utilisées

Solutions		Concentrations
1) Plomb (Pb)	(1mM)	1mM d'acétate de plomb
2) Plomb (Pb)	(2mM)	2mM d'acétate de plomb

II.2. Mise en pots

Le protocole expérimental a été mis en œuvre en utilisant 3 lots répartis en 3 répétitions, conformément à la répartition suivante :

Lot T : semences Témoins

Lot E1 : semences soumises à une concentration de 1 mM d'acétate de plomb.

Lot E2 : semences soumises à une concentration de 2 mM d'acétate de plomb.

Par la suite, dix graines de *V. unguiculata*, ayant déjà germées, ont été soigneusement déposées à une profondeur de 2 cm sous la surface du terreau dans chaque pot.

Les plantules sont arrosées de manière alternée avec de l'eau distillée et les différentes solutions utilisées dans l'expérimentation pour les lots E1 et E2. Le témoin, est régulièrement arrosé avec de l'eau distillée.



Figure 10 : Dispositif expérimental.

II.2. Mise en pots

Le protocole expérimental a été mis en œuvre en utilisant 3 lots répartis en 3 répétitions, conformément à la répartition suivante :

Lot T : semences Témoins

Lot E1 : semences soumises à une concentration de 1 mM d'acétate de plomb.

Lot E2 : semences soumises à une concentration de 2 mM d'acétate de plomb.

Par la suite, dix grains de *V. unguiculata*, ayant déjà germés, ont été soigneusement déposés à une profondeur de 2 cm sous la surface du terreau dans chaque pot.

Après une période de croissance de 20 jours, les plantules sont arrosées avec 30 ml d'une solution nutritive KNOP. Cette solution fournit les éléments minéraux essentiels, tels que l'azote, le phosphore et le potassium, nécessaires à leur développement.

À la fin de la période de croissance qui est de 60 jours, correspondant au stade 4^{ème} feuille, plusieurs analyses sont effectuées sur les paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques, notamment ceux liés au stress oxydatif, afin d'évaluer les effets du plomb.

II.3 Etude morfo-physiologique et analyse biochimique :

Toutes les mesures et analyses effectuées dans cette partie ont été réalisées sur les 3 lots d'expérimentation avec 3 répétitions pour garantir une précision maximale des résultats.

II.3.1. Mesures biométriques de la croissance :

a. Mesure de la longueur :

Afin de suivre la croissance linéaire des parties aériennes, des mesures de la taille ont été réalisées. Ces mesures sont faites soigneusement à l'aide du papier millimétré. Les résultats sont exprimés en centimètres.

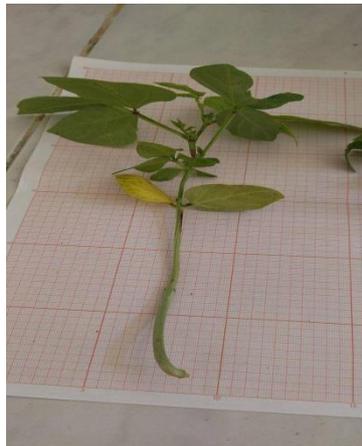


Figure 11 : Les mesures biométriques de la longueur

a- Mesure de la surface foliaire :

La surface foliaire d'une plante a été mesurée à l'aide de la méthode de la photocopie, commencez par sélectionner un échantillon représentatif de feuilles saines et intactes de la plante. Placez une feuille de papier blanc sous une de ces feuilles, imprimez la photo sur une feuille de papier en utilisant une photocopieuse. Découpez la photocopie en suivant précisément les contours de la feuille. À l'aide d'une règle, mesurez la longueur et la largeur de la découpe, en prenant les dimensions les plus longues possibles pour une meilleure précision. Multipliez ensuite la longueur par la largeur pour obtenir la surface individuelle de la feuille en centimètres carrés (cm²).

c- Mesure de la biomasse :

Les parties aériennes et racinaires de chaque plante ont été pesées individuellement à l'état frais (poids de matière végétale fraîche, PMVF), puis à l'état sec (poids de matière végétale sèche, PMVS), après avoir été placées à l'étuve pendant 48 heures à 70 °C. Les résultats sont exprimés en milligrammes.

II.3.2. Mesure de l'intégrité membranaire :

L'intégrité cellulaire est évaluée en mesurant la conductivité électrolytique selon le protocole modifié de Pike et al, (1998). La conductivité électrolytique indique la quantité d'électrolytes présents dans une solution donnée, et elle a été mesurée sur les feuilles. Une faible conductivité indique que les feuilles sont saines et intactes, car elles libèrent moins d'électrolytes dans l'eau d'immersion. Par conséquent, une valeur de conductivité plus faible est associée à une meilleure intégrité structurale des membranes.

Dix disques foliaires d'un diamètre de 1 cm sont placés dans des tubes à essai contenant 10 ml d'eau distillée. Les tubes sont soumis à une agitation pendant une durée d'une heure. La première mesure de conductivité (EC, exprimée en micro siemens par centimètre : $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) est effectuée à l'aide d'un conductimètre. Ensuite, les tubes sont placés dans un bain Marie et chauffés à 95 °C pendant une heure afin d'assurer une destruction totale de la matière végétale. Après refroidissement, une deuxième mesure de la conductivité, appelée conductivité totale (ET), est réalisée. L'intégrité membranaire est quantifiée en pourcentage et est déterminée par le rapport entre EC et ET :

$$\text{Fuite relative d'électrolytes (\%)} = (\text{EC} / \text{ET}) * 100$$

II.3.3. Analyse biochimique :

➤ Extraction et dosage de pigments photosynthétiques foliaires

50 mg de matière végétale fraîche (feuilles) sont broyés dans 2 ml d'acétone à 80 %. Ensuite, le broyat est centrifugé pendant 10 minutes à 3000 trs.min⁻¹. On récupère ensuite le surnageant qui est ensuite mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre. La mesure est effectuée en comparaison avec une solution (blanc) contenant 80 % d'acétone. Les résultats obtenus sont exprimés en termes de teneur en chlorophylle ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MVF) et sont calculés en utilisant les relations suivantes (Lichtenthaler, 1987) :

$$\text{Chl a } (\mu\text{g} / \text{ml}) = 12.7 \times \text{D.O663} - 2.7 \times \text{D.O647}$$

$$\text{Chl b } (\mu\text{g} / \text{ml}) = 22.9 \times \text{D.O647} - 4.7 \times \text{D.O663}$$

$$\text{Chl a} + \text{Chl b} = \text{Chl totale } (\mu\text{g} / \text{ml}) = 20.2 \times \text{D.O647} + 8.02 \times \text{D.O663}$$

$$\text{Ou Chl totale} = (\text{D.O. 652}) / 34,5 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Caroténoïdes } (\mu\text{g} / \text{ml}) = \{(1000 \times \text{D.O470}) - [(1.82 \times \text{Chl a}) + (85.02 \times \text{Chl b})]\} / 198$$

Les longueurs d'onde utilisées pour les mesures sont sélectionnées en fonction des spectres d'absorption spécifiques des composés suivants : la chlorophylle "a" ($\lambda_a = 647 \text{ nm}$), et la chlorophylle "b" ($\lambda_b = 663 \text{ nm}$).

➤ **Extraction et dosage des sucres éthanolosolubles :**

La méthode de dosage des sucres solubles est fondée sur la technique développée par McReady et al. (1950). Lorsque les oses sont traités avec de l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 91 % et chauffés, ils se transforment en dérivés de furfural qui réagissent ensuite avec l'anthrone à chaud, formant ainsi un composé de couleur bleu-vert.

• **Extraction**

Les sucres solubles sont extraits à partir de 100 mg de matière végétale fraîche (MVF). Les feuilles sont broyées dans 4 ml d'éthanol bouillant à 80 %. Après agitation, le broyat est centrifugé pendant 20 min à $5000 \text{ trs.min}^{-1}$. Le surnageant est récupéré. Une deuxième extraction est réalisée et le surnageant est ajouté au précédent. Les deux surnageant sont mélangés et ajustés à 10 ml avec de l'eau distillée.

• **Dosage**

Pour réaliser l'analyse, on ajoute 2 ml de réactif à l'anthrone (contenant 0.2 g dans 100 ml d'acide sulfurique à 95 %) à 1 ml d'extrait glucidique. Les tubes sont agités, puis placés dans un bain-marie à 100°C pendant 7 minutes afin de permettre le développement de la coloration. Une fois refroidis, les tubes sont soumis à une lecture de densité optique à une longueur d'onde $\lambda = 630 \text{ nm}$ à l'aide d'un spectrophotomètre. Avant l'analyse, le spectrophotomètre est calibré en utilisant un blanc préparé en mélangeant 1 ml d'éthanol avec 2 ml de réactif. La teneur en sucres solubles est exprimée en mg.g^{-1} de MVF.

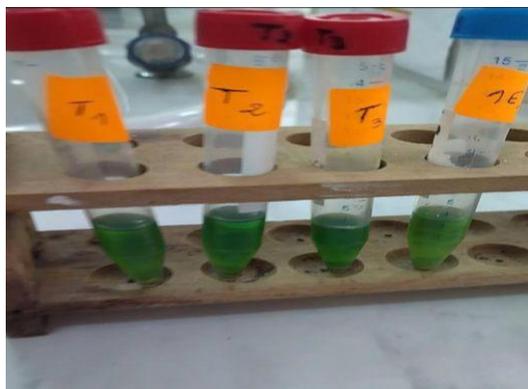


Figure 12 : Le dosage des sucres éthanolosolubles

- **Courbe étalon des sucres solubles**

Une série d'échantillons étalons est réalisée, en utilisant des concentrations croissantes de glucose. Ces échantillons sont préparés en diluant une solution mère de glucose de concentration $50 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$.

- **Extraction et dosage des protéines totales**

La quantification des protéines solubles est réalisée en utilisant la méthode de Bradford (Bradford, 1976). Cette méthode repose sur une réaction colorimétrique qui provoque un changement de couleur du bleu de Coomassie suite à son interaction avec les acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, la tyrosine et la phénylalanine, ainsi qu'avec les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les protéines (Weckber and Cory, 1988).

- **Extraction**

Pour préparer l'extrait, 100 mg de feuilles sont broyées dans 1 ml de tampon Tris-HCl 0.1 M à un pH de 8.1. Ensuite, le mélange obtenu est centrifugé pendant 5 minutes à une vitesse de $15\ 000 \text{ trs}.\text{min}^{-1}$ et à une température de 4°C . Le liquide clair (surnageant) est prélevé pour la quantification des protéines, tandis qu'une partie de l'extrait est conservée à une température de -20°C pour les mesures ultérieures des activités enzymatiques.

- **Dosage**

Pour réaliser l'analyse, on ajoute $50 \mu\text{l}$ de surnageant à 3 ml de réactif de Bradford (bleu de Coomassie G). Après une incubation de 5 minutes, la densité optique (D.O) à une longueur d'onde $\lambda = 595 \text{ nm}$ est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre préalablement étalonné. Le spectrophotomètre est calibré en utilisant un blanc préparé en mélangeant $50 \mu\text{l}$ d'eau distillée avec 3 ml de réactif de Bradford.

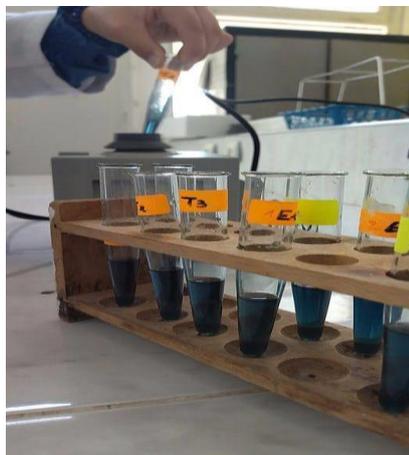


Figure 13 : Le dosage des protéines

- **Courbe étalon des protéines totales**

La gamme d'étalonnage est préparée en réalisant des dilutions croissantes d'albumine de sérum bovin (BSA) à partir d'une solution mère de concentration 1 mg.ml^{-1} .

- **Extraction et dosage de la proline**

La méthode de dosage de la proline utilisée est basée sur la technique de Bates (1973) avec des modifications apportées par Magné et Larher (1992). Ces ajustements visent à éliminer toute interférence avec les sucres en supprimant l'acide phosphorique lors de la préparation de la ninhydrine. Cette méthode repose sur la réactivité de la proline en milieu acide et à chaud avec la ninhydrine, formant ainsi un composé rose soluble dans des solvants organiques tels que le toluène.

- **Extraction**

Dans des tubes Eppendorf, on procède au broyage de 50 mg de matière végétale sèche dans 1 ml d'eau distillée. Ces tubes sont ensuite placés dans un bain-marie à une température de 100°C pendant une durée de 30 minutes. Après cela, une centrifugation de 10 minutes à $13\,000 \text{ trs.min}^{-1}$ est effectuée pour séparer les phases. Le surnageant obtenu est récupéré. Une deuxième extraction est réalisée en utilisant 500 μl d'eau distillée, et le surnageant est ensuite ajouté au précédent pour être combiné.

- **Dosage**

On ajoute 1 ml du réactif à la ninhydrine à 1 % (préparé en dissolvant 1 g de ninhydrine dans un mélange d'acide acétique glacial et d'eau dans un rapport de 60/40 v/v) à 500 μl d'extrait de proline. Les tubes à essais contenant le mélange sont ensuite placés dans un bain-marie à une température de 95°C pendant 20 minutes. Après refroidissement, on ajoute 3 ml de toluène. En agitant vigoureusement au vortex, on observe la formation de deux phases distinctes :

- La phase supérieure est organique contenant la proline.
- La phase inférieure, qui est la phase aqueuse, sera éliminée

Figure 14 : Les deux phases résultant de l'extraction de la proline



On récupère la phase supérieure et on mesure sa densité optique (D.O) à une longueur d'onde de $\lambda = 520 \text{ nm}$ à l'aide d'un spectrophotomètre.

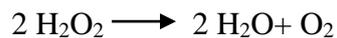
- **Courbe étalon de la proline**

Une gamme d'étalons est préparée en utilisant des concentrations croissantes de proline, obtenues à partir d'une solution mère de $0,1 \text{ mg.ml}^{-1}$. Une courbe d'étalonnage est ensuite tracée.

II.3 Mesures de l'activité antioxydante enzymatique de la catalase

Cette activité est mesurée sur les protéines totales extraites comme décrit dans la partie extraction des protéines, dans un tampon d'extraction Tris-HCl 0.1 M (pH 8.1)

L'activité de la catalase est évaluée en mesurant la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à 240 nm , en utilisant le coefficient d'extinction molaire ($\epsilon=36 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). La méthode utilisée suit le protocole décrit par Dorey et al. (1998). Le principe de cette méthode repose sur la capacité de la famille d'enzymes catalase à décomposer les molécules de H_2O_2 .



Le mélange réactionnel (1 ml) est composé de 50 mM de tampon phosphate à pH 7,5, 10 mM de H_2O_2 et $30 \mu\text{l}$ d'extrait protéique (correspondant à $30 \mu\text{g}$ de protéines). La diminution de l'absorbance est mesurée pendant une période de 30 secondes. L'activité de la catalase est exprimée en nmoles de H_2O_2 dégradées par minute et par mg de protéines totales. La conversion de la vitesse initiale (changement d'absorbance à 240 nm) en activité spécifique de la catalase est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Activité } (\mu\text{kat.mg}^{-1} \text{ protéines}) = \Delta\text{DO. min}^{-1} \times 1000 / (36 \times \text{mg protéines})$$

➤ **Dosage du plomb**

La détermination de la teneur en plomb dans la plante est effectuée par spectrométrie d'absorption atomique (SAA) après attaque par l'acide nitrique et l'acide perchlorique selon la méthode décrite par Vogel-Milkus et al.,(2005).

Une aliquote de 30 mg de matière végétale sèche et broyée a été minéralisée par digestion humide dans $3,5 \text{ ml}$ d'un mélange ultra pur d' $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ concentré. Après une période d'incubation de 24 heures dans le même mélange à température ambiante. Les échantillons ont ensuite analysés par spectrométrie d'absorption atomique.

❖ Analyse Statistique

Les résultats des paramètres testés sont présentés par la moyenne de trois mesures +/- écart-type. L'ensemble des données obtenues ont fait l'objet d'une étude statistique basée sur une analyse de variance ANOVA à un facteur, plus une comparaison entre les moyennes selon le test de Student à $p < 0.05$, des lettres alphabétiques différentes correspondent à des valeurs significativement différentes.

Chapitre III

Résultats et Discussions

III. Résultats et discussion

III.1 Mesures biométriques de la croissance

Des mesures ont été réalisées pour évaluer la croissance des jeunes plantes de *Vigna*, y compris la mesure de la longueur de la partie aérienne, le poids de la matière végétale fraîche et sèche et la surface foliaires.

➤ Longueur des parties aérienne

L'analyse de variance (ANOVA) a montré que le plomb n'a pas d'effet significatif sur la longueur aérienne des plantules de *Vigna unguiculata*.

a- Effet de la concentration 1mM :

Les plantules de *Vigna* soumises à une concentration de plomb de 1mM présentent une longueur moyenne de la partie aérienne de 16.50 ± 1.47 , elle est légèrement inférieure à celle des plantules de témoin (T) qui est de 17.11 ± 2 cm soit une diminution de 3.57%

b- Effet de la concentration 2mM :

À la concentration de 2 mM les plantules de *Vigna* présentent une longueur moyenne de la partie aérienne de 15.17 ± 0.95 cm, tandis que les plantules de témoin ont une longueur moyenne de 17.11 ± 2 cm, soit une diminution de 8.12% mais cet effet n'est pas statistiquement significatif.

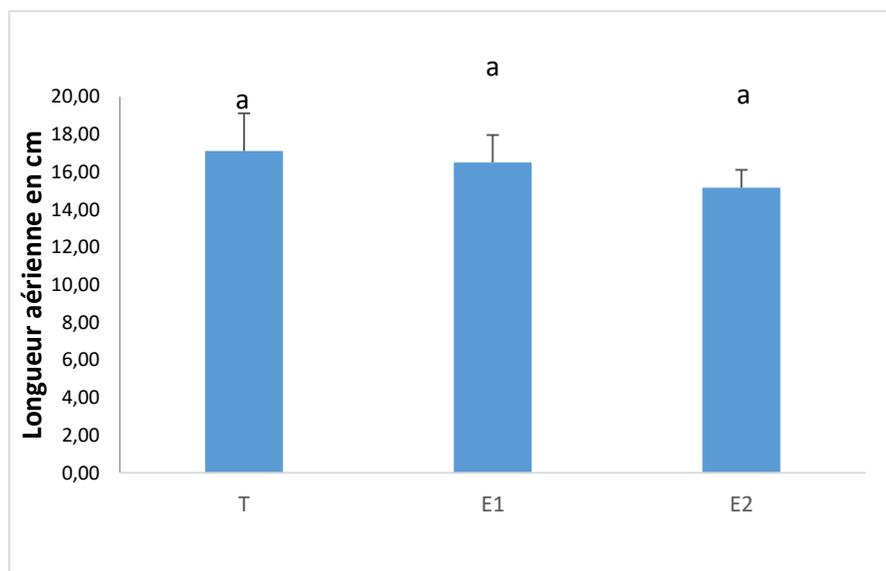


Figure 15 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la longueur de la partie aérienne de *Vigna unguiculata* (Des lettres alphabétiques différentes correspondent à des valeurs significativement différentes)

➤ **Poids de la matière végétale fraîche (PMVF)**

L'analyse de variance ANOVA a montré que le plomb a un effet significatif sur le poids frais aérien de *Vigna*.

a- Effet de 1 mM de plomb (E1) par rapport aux témoins :

Poids de la matière végétale fraîche (PMVF) des plantes (E1) traitées à une concentration de 1 mM de plomb a montré une diminution significative de 27,72 % par rapport aux plantes témoins. Chez les plantules de *Vigna* le témoin montre un poids de 4806 ± 1018.49 mg, et de 3474 ± 741.10 mg chez les plantules de concentration de 1mM, entraînant une réduction du poids des plantes par rapport aux plantes non exposées.

b- Effet de 2 mM de plomb (E2) par rapport aux témoins :

Les plantules de *Vigna* arrosées avec la concentration 2mM ont montré un poids de la matière végétale fraîche aérienne de 2535 ± 163.33 mg, alors les plantules témoins le PMVF est de 4806 ± 1018.49 mg, donc. Le poids de la matière végétale fraîche des plantes (E2) est encore plus réduit de 47,46% par rapport aux témoins.

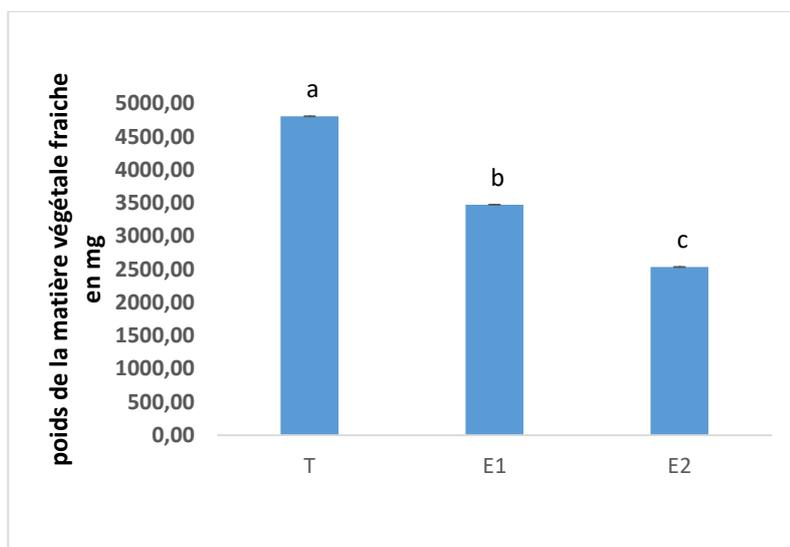


Figure 16 : Effet des différentes concentrations de plomb sur le PMVF de *Vigna unguiculata* (Des lettres alphabétiques différentes correspondent à des valeurs significativement différentes)

➤ **Poids de la matière végétale sèche (PMVS)**

Le test ANOVA montre que les concentrations 1mM et 2mM ont un effet significatif sur le poids de la matière végétale sèche (PMVS) aérienne des plantules de *Vigna unguiculata*.

a- Effet de 1 mM de plomb par rapport aux témoins :

Poids de la matière végétale sèche (PMVS) des plantes (E1) traitées à une concentration de 1 mM de plomb a montré une diminution significative de 30.44 % par rapport aux plantes témoins. Chez les plantules de *Vigna* le témoin il est de 659.33 ± 220.09 mg, et de 458.67 ± 94.55 mg chez les plantules traitées à une concentration de 1mM, entraînant une réduction du poids des plantes par rapport aux plantes non exposées au polluant.

b- Effet de 2 mM de plomb (E2) par rapport aux témoins :

Les plantules de *Vigna* de la concentration 2mM ont un poids de la matière végétale sèche aérienne de 337 ± 58.24 mg , alors les plantules de témoin ont un PMVF de 659.33 ± 220.09 mg, donc le poids de la matière végétale sèche de la plante (E2) est encore plus réduit de 48.89 % par rapport aux témoins.

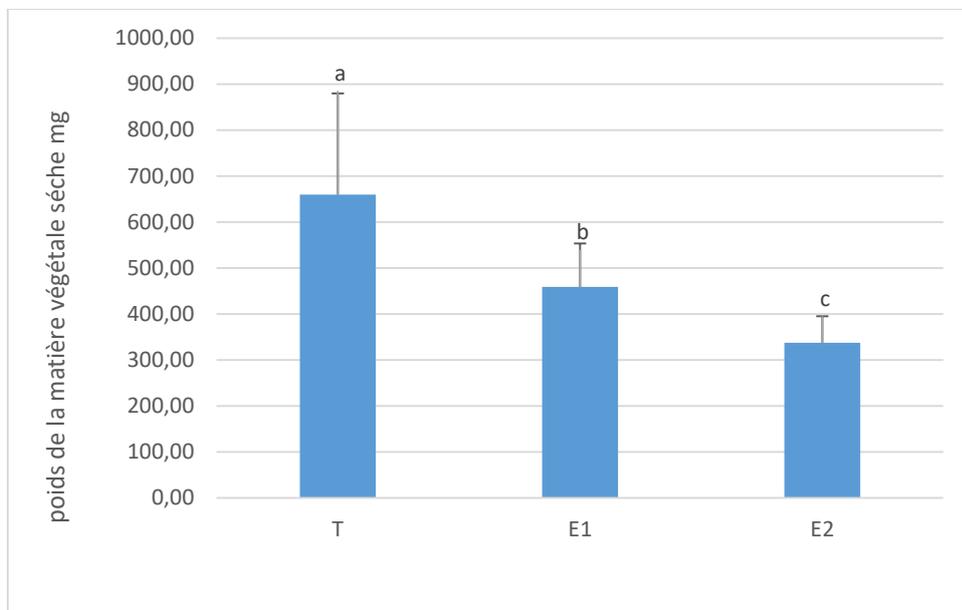


Figure 17 : effet de différentes concentrations de plomb sur le PMVS de *Vigna unguiculata* (Des lettres alphabétiques différentes correspondent à des valeurs significativement différentes)

➤ La surface foliaire (SF)

L'analyse de variance a montré que les concentrations 1mM et 2mM d'acétate de plomb ont un effet significatif sur la surface foliaire des feuilles des plantules *Vigna unguiculata*.

a- Effet de 1 mM de plomb (E1) :

Pour les plantes soumise à la concentration 1mM de plomb il y a une diminution significative de 34,64% de la surface foliaire par rapport aux plantes de témoins. La surface

foliaire des feuilles de la plante T est de $21.37 \pm 2.68 \text{ cm}^2$, et chez la plante E1 est de $13.97 \pm 1.03 \text{ cm}^2$.

b- Effet de 2 mM de plomb (E2) :

Pour les plantes soumise à la concentration 2mM de plomb, la surface foliaire des feuilles de la plante T est de $21.37 \pm 2.68 \text{ cm}^2$, et chez la plante E2 est de $12.64 \pm 3.25 \text{ cm}^2$, soit une diminution significative de 40.90%.

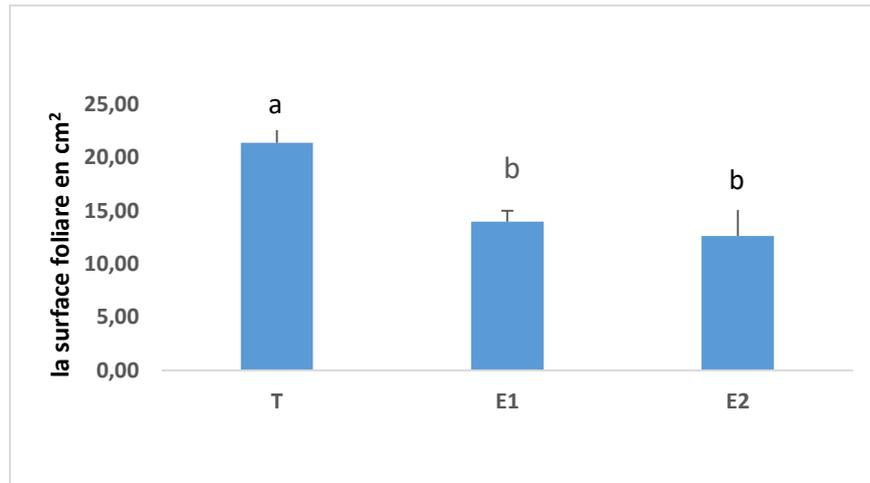


Figure 18 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la surface foliaire de *Vigna unguiculata*. (Des lettres alphabétiques différentes correspondent à des valeurs significativement différentes)

❖ **Discussion :**

Les résultats obtenus dans cette partie de l'expérimentation, démontrent de manière significative les effets néfastes de l'exposition au plomb sur les paramètres biométriques étudiés : la longueur aérienne, le poids de la matière végétale fraîche et sèche, ainsi que la surface foliaire des plantes. À des concentrations plus élevées de plomb, ces effets sont encore plus prononcés sur la plantes. Une étude menée par Zhao et al, (2021) a démontré que le stress dû au cadmium dans le sol avait une influence négative sur la croissance du *Sassafras* et réduisait la croissance de la longueur des plantes ainsi que de la biomasse des feuilles, comme l'ont documenté plusieurs études. Par exemple, les travaux de Juknys et al., (2012) ont également montré une réduction de la biomasse sèche détectée le long du gradient de concentration de tous les métaux étudiés comme le chrome, le plomb et le cadmium. Même des concentrations les plus faibles de métaux lourds (à l'exception du nickel) ont entraîné une diminution statistiquement significative ($P < 0,05$) de la biomasse sèche des plantes d'orge. Des résultats similaires ont été observés par Gange (2000), où il a été montré que la concentration élevée de Pb a réduit la longueur des racines et des tiges, ainsi que la biomasse fraîche et sèche.

L'absorption accrue du Pb par la plante peut restreindre la production de biomasse chez les plantes. La toxicité du Pb chez les plantes se manifeste par une inhibition de la croissance, une réduction du nombre de feuilles et la formation de feuilles plus petites et plus cassantes chez les plantes de maïs selon les travaux de Navari-lazzo et Quartacci, 2001 ; Shaw et al., 2001. Même à faible concentration, le plomb entrave la croissance des parties aérienne et racinaire des plantes. Cette diminution de la croissance, en présence du plomb, a été expliquée par plusieurs chercheurs. Ils ont démontré que l'effet toxique des ETM de manière générale se reflète sur sa capacité d'inhiber les enzymes du métabolisme général des plantes.

III.2. Paramètres physiologique et biochimique

III.2.1. Intégrité membranaire

Le test de fuite d'électrolytes a été réalisé pour mesurer l'intégrité membranaire de feuilles des plantules de *Vigna*. Le Principe de ce test est de mesurer l'électroconductivité d'un milieu aqueux contenant des disques de feuilles de plantules traitées aux différentes concentrations.

L'analyse de variance (ANOVA), montre que les concentrations 1mM et 2mM d'acétate de plomb ont un effet significatif sur l'intégrité membranaire.

a- Effet de 1 mM de plomb (E1) par rapport aux témoins :

Une augmentation significative de 82,06 % de la fuite d'électrolytes des plantes (E1) traitées à une concentration de 1mM de plomb par rapport aux plantes témoins. Chez la plante T la fuite relative d'électrolytes est de 9.53 ± 0.89 % par rapport aux la plante E1 qui est de 17.35 ± 0.71 %.

b- Effet de 2 mM de plomb (E2) par rapport aux témoins :

À une concentration de 2 mM de plomb, on observe une augmentation de 96,95% encore plus prononcée de la fuite d'électrolytes des plantes traitées (E2) par rapport aux plantes témoins. Chez la plante E2 la fuite relative d'électrolytes est de 18.77 ± 1.29 % alors que chez les plantes T elle est de 9.53 ± 0.89 %.

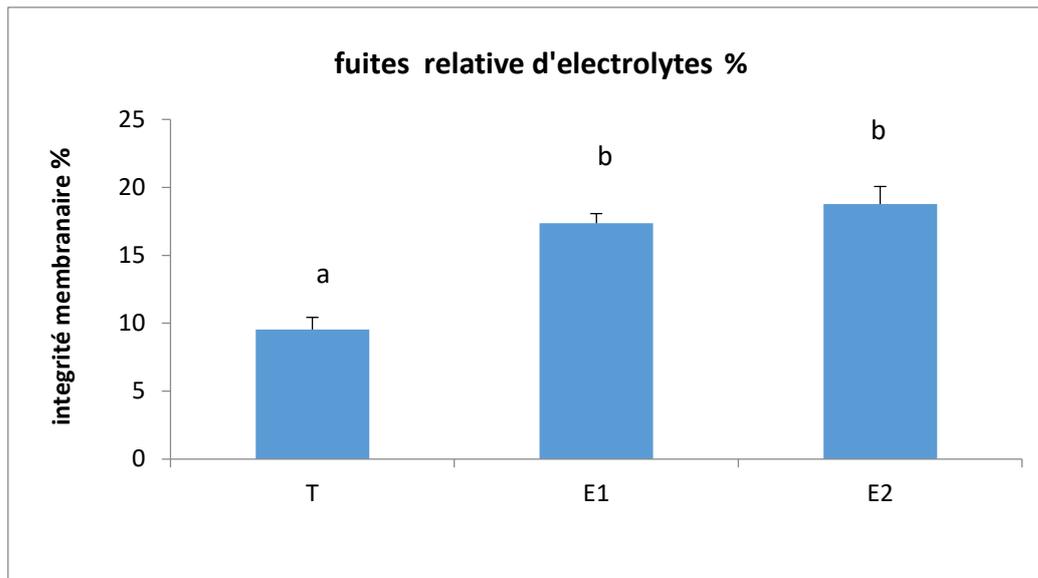


Figure 19 : Effet des différentes concentrations de plomb sur l'intégrité membranaire de *Vigna unguiculata* (Des lettres alphabétiques différentes correspondent à des valeurs significativement différentes)

III.2.2. Teneur en pigments photosynthétiques

- **Chlorophylles a + b :**

Selon l'analyse de variance, il y a une différence significative observée pour les deux concentrations 1mM et 2mM sur la teneur en chlorophylle a + b.

a- Effet de 1 mM de plomb (E1) par rapport aux témoins :

Chez les plantes T, la teneur en chlorophylle a+b est de $32.81 \pm 1.46 \mu\text{g.g}^{-1}\text{MVF}$, et chez les plantes E1 est de $18.39 \pm 0.93 \mu\text{g.g}^{-1}\text{MVF}$. Donc, il y a une diminution significative de 47,61% de la teneur en pigments photosynthétiques des plantes traitées (E1) à une concentration de 1 mM de plomb par rapport aux plantes témoins. Cela indique que le plomb a un effet néfaste sur la production de pigments photosynthétiques.

b- Effet de 2 mM de plomb (E2) par rapport aux témoins

La teneur en chlorophylle total a + b chez les plantes E2 est de $14.14 \pm 1.26 \mu\text{g.g}^{-1}\text{MVF}$, par contre chez les plantes témoin elle est de $32.81 \pm 1.46 \mu\text{g.g}^{-1}\text{MVF}$. Cela nous indique une diminution encore plus prononcée et significative de 58,38% de la teneur en pigments photosynthétiques des plantes traitées (E2) que celle des témoins.

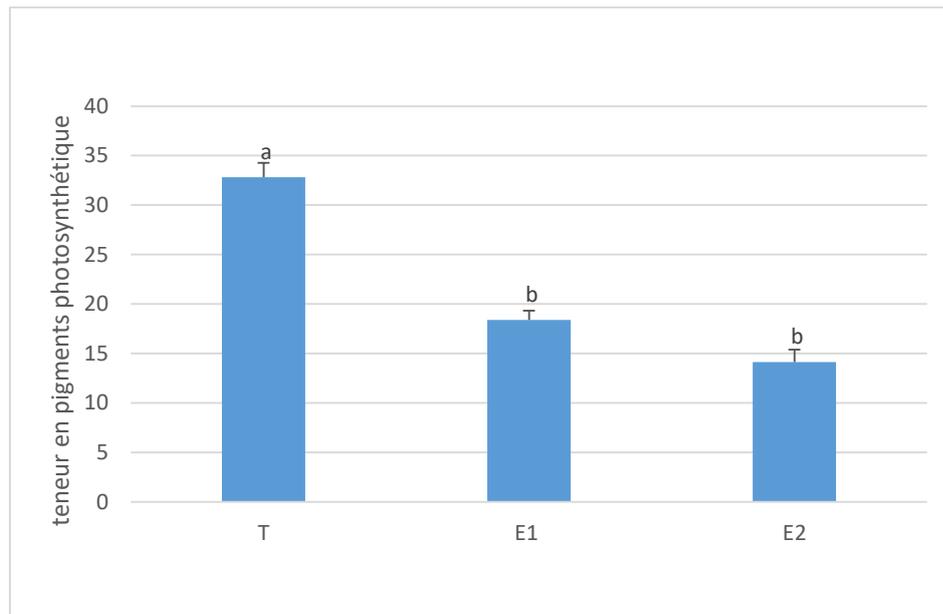


Figure 20 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la teneur en chlorophylles ($a+b$) de *Vigna unguiculata* (Des lettres alphabétiques différentes correspondent à des valeurs significativement différentes)

- **Caroténoïdes**

L'analyse de variance nous indique qu'il existe une différence significative des concentrations 1mM et 2mM sur la teneur en caroténoïdes.

a- Effet de 1 mM de plomb (E1) par rapport aux témoins :

La teneur en caroténoïdes chez les plantules T est de $1825.25 \pm 205.09 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVF et chez les plantes E1 est de $689.656 \pm 59.38 \mu\text{g/g}$ MVF. Une diminution significative de 62.22% de la teneur en caroténoïdes des plantes traitées (E1) à une concentration de 1 mM de plomb par rapport aux plantes témoins. Cette diminution indique que le plomb a un effet négatif sur la biosynthèse et l'accumulation des caroténoïdes dans les plantes exposées.

b- Effet de 2 mM de plomb (E2) par rapport aux témoins :

Les plantes E2 présentent une teneur en caroténoïdes de $682.13 \pm 52.85 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVF presque semblable à celle de la plante E1, mais il y a encore une diminution significative de 62.63% de la teneur en caroténoïdes par rapport au témoin. Indiquant une altération plus importante de la biosynthèse des caroténoïdes due à l'exposition au plomb.

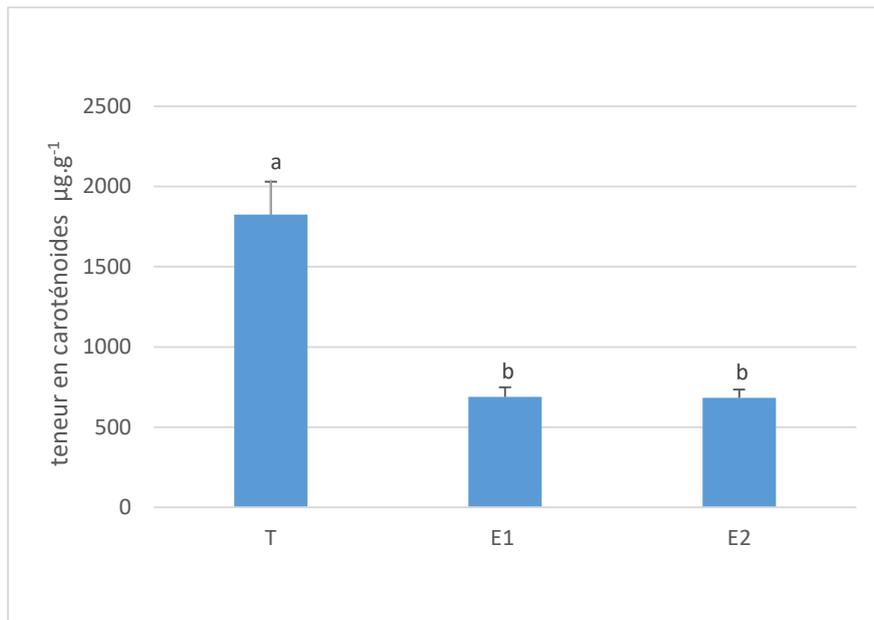


Figure 21 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la teneur des caroténoïdes de *Vigna unguiculata* (Des lettres alphabétiques différentes correspondent à des valeurs significativement différentes)

III.2.3. Sucres éthanolosolubles

Selon le test statistique ANOVA, il n'y a pas de différence significative observée pour la concentration 1mM, par contre il y a un effet significatif pour la concentration 2mM en ce qui concerne la teneur en sucres éthanolosolubles.

a- Effet de 1 mM de plomb par rapport aux témoins :

La teneur en sucre éthanolosolubles est de $582.05 \pm 46.02 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVF chez les plantes T, et de $700.85 \pm 122.94 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVF chez les plantes E1 donc, même si elle n'est pas significative, il y a une augmentation de 20,41 % de la teneur en sucres éthanolosolubles des plantes traitées (E1) à une concentration de 1 mM de plomb par rapport aux plantes témoins. Cette augmentation indique que le plomb perturbe le métabolisme des hydrates de carbone chez les plantes, conduisant à une accumulation accrue de sucres éthanolosolubles.

b- Effet de 2 mM de plomb par rapport aux témoins :

La teneur en sucre éthanolosolubles est de $766.24 \pm 58.07 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVF chez les plantes E2 et de $582.05 \pm 46.02 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVF chez les plantes T. Donc une augmentation de 31,64% encore plus prononcée de la teneur en sucres éthanolosolubles des plantes traitées (E2) par rapport au témoin. Soulignant une accumulation plus marquée des sucres due à l'exposition au plomb.

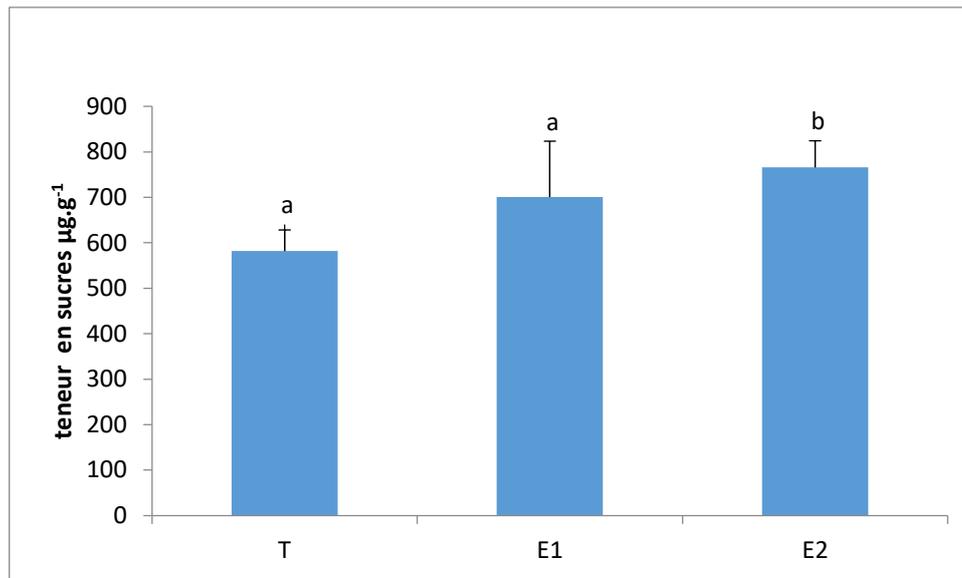


Figure 22 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la teneur en sucres éthanolosolubles de *Vigna unguiculata* (Des lettres alphabétiques différentes correspondent à des valeurs significativement différentes)

❖ Discussion :

Plusieurs études antérieures ont corroboré nos résultats concernant les effets néfastes de l'exposition au plomb sur différents aspects physiologiques des plantes, notamment la fuite d'électrolytes. Dans une étude menée par Bamagoos et al., (2022), où il confirme que la fuite d'électrolyte due aux dommages de la peroxydation lipidique sur la membrane plasmique peut inhiber le développement des plantes, est un des aspect de la toxicité du plomb et du cadmium. Nour et Louhichi (2016), ont montré que la perte de l'intégrité membranaire, causée par l'accumulation des espèces réactives d'oxygène, engendre une augmentation de la fuite d'électrolytes. On assiste ainsi à une perturbation du métabolisme général de la plante, et par conséquent, sa croissance.

D'autres études réalisées sur les métaux lourds, montre que ces derniers affectent principalement les pigments photosynthétiques des plantes de trois manières. Premièrement, ils pénètrent dans les chloroplastes et peuvent causer des dommages en provoquant un stress oxydatif et une peroxydation des membranes. Deuxièmement, ils inhibent l'absorption et le transport d'autres éléments métalliques nécessaires à la synthèse des pigments. Enfin, ils activent des enzymes qui accélèrent la décomposition des pigments (Jayasri and Suthindhiran, 2017).

Nos résultats sont en parfaite concordance avec les travaux de Messaoud et Akrouf (2019), car les chercheurs ont aussi noté une diminution importante de la teneur en pigments

chlorophylliens (Chl a, Chl b, Chl t et Caroténoïdes) des céréales exposées à différentes concentrations de Pb (0.15, 0.3 et 0.6 g.L⁻¹) par rapport aux témoins. Cette diminution s'accroît avec l'augmentation de l'intensité du stress. D'ailleurs, Sytar et al., (2013) confirment que les concentrations élevées de Pb ont aggravé les dommages ultra-structuraux des cellules foliaires, notamment la perturbation des chloroplastes (disparition des enveloppes des chloroplastes), des cristaux mitochondriaux (vacuolisation des mitochondries), de la membrane nucléaire et des nucléoles (condensation de la chromatine).

Concernant la teneur en sucres éthanolsolubles, notre étude a révélé une augmentation de la teneur de ces derniers chez les plantes exposées au plomb, ce qui est cohérent avec les travaux menés par Guo et al., (2007) montrant que toutes les conditions de stress ont induit l'accumulation de sucres solubles dans les racines et les feuilles des deux génotypes d'orge. Cette augmentation suggère une réponse adaptative des plantes pour faire face au stress oxydatif induit par le plomb. Les sucres solubles peuvent aussi contribuer à l'osmoajustement et à l'osmoprotection (Korn et al., 2008). Ils sont impliqués dans la signalisation (Koch, 1996) et donc la plante accumule d'avantage de sucres pour une meilleure protection des structures cellulaires.

III.2.4. Teneur en protéines

D'après l'analyse des résultats effectuée à l'aide du test ANOVA, il y a un effet significatif pour les différentes concentrations d'acétate de plomb 1mM et 2mM.

a- Effet de 1 mM de plomb par rapport aux témoins :

La concentration 1mM de plomb traduit un effet très significatif sur la plante E1. Chez les plantes témoin on observe une teneur en protéine de 0.48 ± 0.06 mg.g⁻¹ MVF, et de 0.18 ± 0.04 mg.g⁻¹ MVF chez les plantes E1. Alors une diminution très significative de 62,65% de la teneur en protéines des plantes traitées (E1) à une concentration de 1 mM de plomb par rapport aux plantes témoins. Cette diminution suggère que le plomb perturbe le métabolisme des protéines dans les plantes.

b- Effet de 2 mM de plomb par rapport aux témoins :

Chez les plantes E2 la teneur en protéine est de 0.17 ± 0.02 mg.g⁻¹ MVF presque semblable à celle d'E1 0.18 ± 0.04 mg.g⁻¹ MVF. Mais il y a encore une diminution significative de 64,58 % à une concentration de 2 mM de plomb en comparant avec le témoin. Soulignant une perturbation plus marquée du métabolisme des protéines due à l'exposition au plomb.

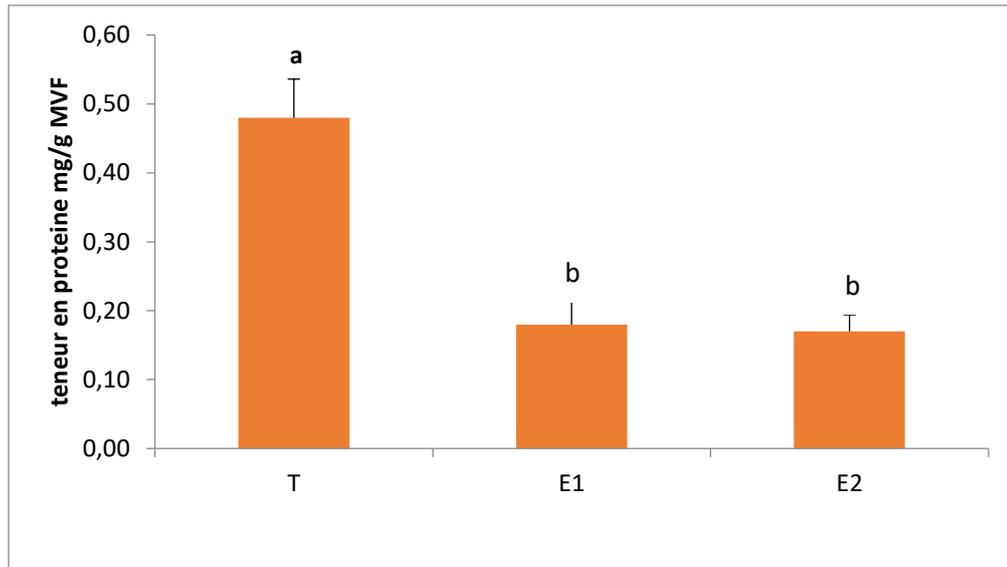


Figure 23 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la teneur en Protéine de *Vigna unguiculata* (Des lettres alphabétiques différentes correspondent à des valeurs significativement différentes)

III.2.5. Teneur en Proline

L'analyse de variance ANOVA appliquée à la teneur en proline des plantules de *Vigna*, a montré qu'il y a un effet significatif à la fois des concentrations 1 mM et 2 mM.

a- Effet de 1mM de plomb (E1) par rapport aux témoins :

Les résultats montrent une augmentation significative de 30,03 % de la teneur en proline des plantes traitées (E1) à une concentration de 1 mM de plomb par rapport aux plantes témoins. Chez les plantes (T) la teneur en proline est de $24.84 \pm 4.61 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVS et chez les plantes E1 est de $32.3 \pm 2.85 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVS. Cette augmentation souligne une réponse de stress induite par le plomb, conduisant à une accumulation accrue de proline.

b- Effet de 2mM de plomb (E2) par rapport aux témoins :

De même, à une concentration de 2 mM de plomb par rapport aux témoins, les résultats montrent une augmentation de 44,48 % encore plus prononcée de la teneur en proline des plantes traitées (E2). Chez les plantes (T) la teneur en proline est de $24.84 \pm 4.61 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVS et chez les plantes E2 est de $35.89 \pm 6.60 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVS. Cette augmentation renforce l'idée d'une réponse de stress plus intense en présence d'une concentration plus élevée de plomb.

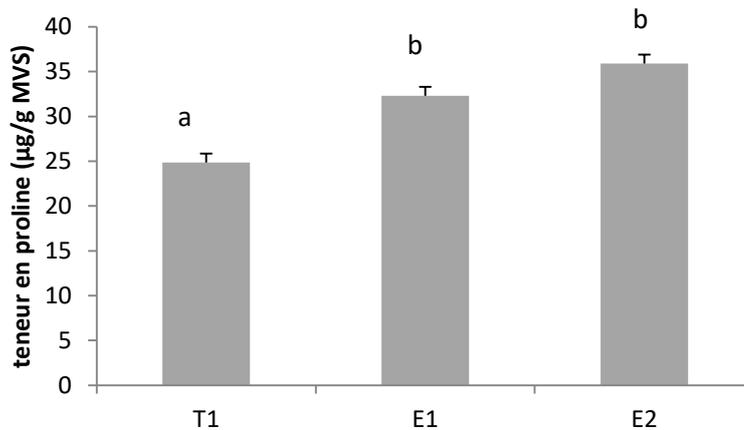


Figure 24 : Effet des différentes concentrations de plomb sur la teneur de proline de *Vigna unguiculata* (Des lettres alphabétiques différentes correspondent à des valeurs significativement différentes)

❖ Discussion :

Les résultats de notre étude sont cohérents avec plusieurs études antérieures qui ont étudié les effets du plomb sur la teneur en protéines et en proline chez les plantes. Par exemple, une étude menée par Piotrowska et al., (2010) a montré une diminution de la teneur en protéines chez les Plante *Wolffia arrhiza* (*Lemnaceae*) exposées au plomb. Cette diminution peut être liée à la fois à l'altération de la biosynthèse des protéines, et au stress oxydatif responsable de l'oxydation, donc de la dégradation des protéines, d'où une augmentation des teneurs en acides aminés. D'ailleurs, Kastori et al (1992), ont constaté que la proline s'accumulait dans les plantes de tournesol *Helianthus annuus* en présence du Pb, Cd, Cu et Zn. Sharma et Dietz (2006), ont noté une augmentation allant jusqu'à 20 fois de la teneur en proline libre dans les feuilles de *Silene vulgaris*, qui n'est pas tolérante aux métaux lourds. Il est connu que la proline est un acide aminé stable à pH neutre qui s'accumule fortement lors d'un stress abiotique (Monnerveux and Nemmar, 1986). Outre ses différents rôles lors d'un stress, cet acide aminé est impliqué dans la préservation de l'intégrité des protéines. Une partie de l'accumulation de cette molécule à rôle osmoprotecteur, résulte de la dégradation des protéines. Ces travaux soutiennent nos résultats et renforcent l'idée que la diminution de la teneur en protéines et l'augmentation de la teneur en proline sont des réponses courantes des plantes exposées au plomb. Ils mettent en évidence la perturbation du métabolisme protéique et la réponse adaptative des plantes face au stress du plomb.

III.2.6. Activité de Catalase

L'analyse des résultats par le test ANOVA montre un effet significatif des concentrations 1mM et 2mM sur l'activité enzymatique de la catalase.

a- Effet de 1mM de plomb (E1) par rapport aux témoins

Les plantules de *Vigna* soumises à une concentration de 1mM présentent une activité intense de la catalase, atteignant une valeur de $776.38 \pm 146.31 \mu\text{kat.mg}^{-1}$ de protéines, par rapport aux plantules témoins (T), où elle est de $59.72 \pm 39.63 \mu\text{kat.mg}^{-1}$ de protéines. Cela représente une augmentation très significative de 1200 %. Cette augmentation suggère une réponse adaptative des plantes exposées au plomb, où l'activité de la catalase est accrue pour compenser les effets néfastes des espèces réactives d'oxygène

b- Effet de 2mM de plomb (E2) par rapport aux (E1)

A une concentration de 2 mM de plomb, les résultats montrent une diminution significative de 45.51 % de l'activité de la catalase des plantes traitées (E2) par rapport aux plantes traitées par une concentration de 1mM (E1). Chez les plantes E1 est de $776.38 \pm 146.31 \mu\text{kat.mg}^{-1}$ de protéines et chez les plantes E2 est de $423.03 \pm 113.18 \mu\text{kat.mg}^{-1}$ de protéines. Cette diminution indique une altération de la capacité des plantes à maintenir des niveaux normaux d'activité de la catalase en présence d'une concentration plus élevée de plomb.

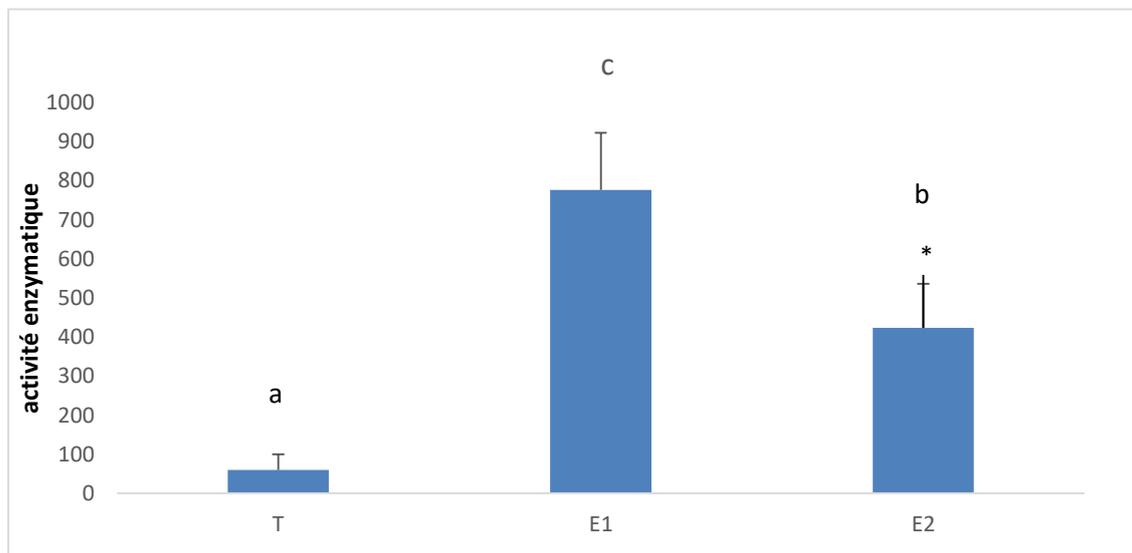


Figure 25 : effet de différentes concentrations de plomb sur l'activité de la Catalase chez *Vigna unguiculata* (Des lettres alphabétiques différentes correspondent à des valeurs significativement différentes)

❖ Discussion :

Les résultats de notre étude indiquent une augmentation de l'activité de la catalase des plantes traitées à une concentration de 1 mM de plomb, ce qui suggère une réponse adaptative face au stress oxydatif induit par le plomb. Cette augmentation de l'activité de la catalase peut aider les plantes à neutraliser les espèces réactives d'oxygène, telles que le peroxyde d'hydrogène, qui peuvent être produites en réponse au stress oxydatif causé par le plomb. Cependant, à une concentration de 2 mM de plomb, l'activité de la catalase diminue, ce qui peut indiquer une altération de l'activité de l'enzyme due à une exposition plus élevée au plomb et une accumulation des ROS plus importante voir délétère. Ces résultats soulignent la complexité des réponses des plantes aux différentes concentrations de plomb, où des mécanismes d'adaptation peuvent être observés à des niveaux plus faibles de plomb, mais une inhibition de la catalase peut survenir à des concentrations plus élevées.

Cependant, la présence de plomb augmente l'activité de la catalase. Une étude menée par Reddy et al (2005), montre que les activités de la catalase et de la peroxydase ont été augmentées dans les feuilles des deux plantes chez le haricot cheval et chez le haricot Bengale soumises à un stress abiotique dû à la présence du plomb. Ces résultats sont soutenus par une autre étude réalisée par Malecka. (2009), qui a montré que l'augmentation des concentrations de plomb ou un traitement plus long, entraînent une inhibition du métabolisme cellulaire et de la production de H₂O₂, qui se traduit par une diminution de l'activité de la catalase sous une intensité plus élevée de stress au plomb. Cette observation est soutenue par une autre étude réalisée par Dey et al. (2007), qui a montré que les diminutions observées des activités de la SOD et de la CAT pourraient être dues à une inhibition enzymatique, étant donné que le Cd est connu pour être un inhibiteur potentiel d'enzymes.

III.2.7. Dosage du plomb foliaire dans la plante

L'analyse des résultats par le test de corrélation, montre une corrélation positive entre la concentration du Pb dans le milieu et son accumulation au niveau des feuilles de *Vigna*.

a- Effet de 1mM de plomb (E1) par rapport aux témoins

La concentration moyenne de plomb dans la matière végétale sèche des échantillons foliaires E1 est de 2,4 mg.g⁻¹ MVS. Tandis que dans le témoin, elle est de 1,8 mg.g⁻¹ MVS. Cette augmentation de 33.33 % nous renseigne sur l'accumulation du Pb au niveau des feuilles de *Vigna*.

b- Effet de 2mM de plomb (E2) par rapport aux (E1)

Les résultats montrent que la concentration de plomb dans la matière végétale sèche des échantillons E2 est de $3,9 \text{ mg.g}^{-1}$ MVS. Cette valeur est significativement plus élevée que celle du témoin qui est de $1,8 \text{ mg.g}^{-1}$ MVS. Cela indique que la concentration de 2 mM de plomb a entraîné une augmentation de 62.5% plus importante de la concentration de plomb dans la matière végétale sèche par rapport de 1 mM de plomb (E1).

Tableau 5 : Concentration de plomb dans la matière végétale sèche dans plante *Vigna unguiculata*

Essai	Concentration mesurée (mg/L)	Concentration de plomb (mg/mg MVS)
T (0 mM de Pb)	0.06	0,037
E1 (1 mM de Pb)	0.08	0,052
E2 (2 mM de Pb)	0.13	0,080

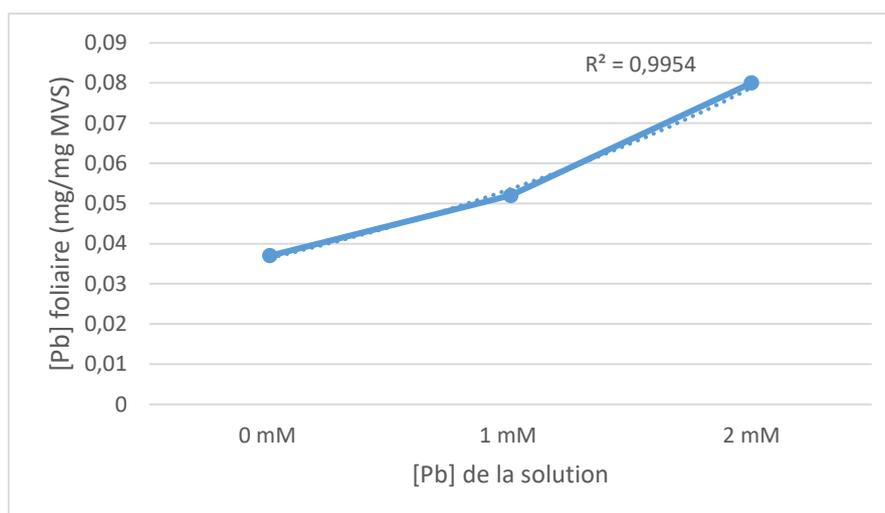


Figure 26 : Variation de l'accumulation du plomb au niveau des feuilles de *Vigna unguiculata* en fonction de la concentration de la solution de Pb d'arrosage.

❖ **Discussion :**

Nos résultats ont montré une augmentation de la teneur en plomb en fonction de l'augmentation de la dose du plomb appliquée, cette augmentation est proportionnelle à la concentration du plomb dans le milieu. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Vogel-Mikuš et al., (2005) qui montrent que le taux de plomb dans la plante augmente en fonction de la concentration du plomb présent dans le milieu. Les travaux de Nadgórska-Socha et al., (2013), réalisés sur la fève ont montré une corrélation très significative entre la présence du plomb dans le sol et son accumulation dans les feuilles la plante *Vicia faba*.

De plus, une étude menée Filipović-Trajković et al., (2012) montre que la concentration maximale de Pb était de $1870,52 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de poids sec et de $7,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de poids sec pour le Cd dans l'écorce de *Robinia pseudoacacia* cultivée dans un sol où des activités métallurgiques émettant du plomb et du zinc sont présentes à proximité des plantes.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Conclusion

En conclusion, cette étude met en évidence les effets néfastes du plomb sur les paramètres morpho-physiologiques de la plante niébé, tels que, la croissance, la teneur en protéines, en proline, en sucre et d'autres paramètres liés au stress oxydatif. Le plomb perturbe les processus de la photosynthèse et de la respiration, ce qui entraîne des carences en nutriments et des dommages aux membranes cellulaires, compromettant ainsi l'intégrité membranaire.

Cependant, il a été observé que la plante réagit proportionnellement en fonction des concentrations de plomb. En présence de plomb il y'a diminution des teneurs en protéines, en pigments photosynthétiques dans les plantules de *Vigna*. Ceci est dû à la perturbation de la photosynthèse, l'altération des activités enzymatiques et une déficience nutritionnelle, conséquence de l'antagonisme des ETM et les éléments nutritifs. Pour la proline, l'augmentation de sa teneur est une réponse au stress oxydatif induit par le plomb. La proline est un acide aminé qui joue un rôle crucial dans la protection des cellules contre le stress oxydatif en stabilisant les membranes cellulaires et en limitant les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène.

D'autre part, l'activité antioxydante de la catalase augmente en présence du plomb à des concentrations moyennes, ce qui signifie que l'enzyme est plus active dans la catalyse du peroxyde d'hydrogène en réponse à une forte accumulation des espèces réactives d'oxygène. Lorsque que la concentration de plomb atteint des valeurs élevées, l'activité de la catalase a diminué. Cela est souvent attribué à un effet inhibiteur du plomb sur l'enzyme, ce qui réduit sa capacité à décomposer efficacement le peroxyde d'hydrogène.

Le dosage du plomb foliaire, a permis de savoir qu'elle est capable d'accumuler ce polluant. Cette accumulation est proportionnelle à la quantité de plomb dans le sol, et donc il serait important, dans une première perspective, de doser les teneurs en plomb dans les fruits de *Vigna* afin d'évaluer le danger lié à la consommation des graines potentiellement contaminés.

Il serait intéressant aussi, dans un but de compléter le travail, de mesurer l'activité des autres enzymes du système antioxydant à savoir : la gaïacol peroxydase, la glutathion réductase... et les systèmes non enzymatiques par le dosage de l'ascorbate et du glutathion.

Ceci nous permettra de développer des stratégies de gestion de la pollution et protéger la santé et la productivité des plantes, en tenant compte des différentes concentrations de plomb rencontrées dans l'environnement.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Adamou, I., Koroney, A. S., Adam, T., & Dicko-Zafimahova, L. D. (2019). Contribution à la connaissance de l'ultrastructure de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., parasite du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Afrique SCIENCE*, 15(1), 332-340.
- Alengebawy, A., Abdelkhalek, S. T., Qureshi, S. R., & Wang, M. Q. (2021). Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: Ecological risks and human health implications. *Toxics*, 9(3), 42.
- Al-Wabel, M. I., Usman, A. R., El-Naggar, A. H., Aly, A. A., Ibrahim, H. M., Elmaghraby, S., & Al-Omran, A. (2015). Conocarpus biochar as a soil amendment for reducing heavy metal availability and uptake by maize plants. *Saudi journal of biological sciences*, 22(4), 503-511.
- Anjum, N. A., Sharma, P., Gill, S. S., Hasanuzzaman, M., Khan, E. A., Kachhap, K., ... & Tuteja, N. (2016). Catalase and ascorbate peroxidase—representative H₂O₂-detoxifying heme enzymes in plants. *Environmental science and pollution research*, 23, 19002-19029.
- Archimede, H., Bastianelli, D., Fanchone, A., Gourdine, J. L., & Fahrasmane, L. (2018). Aliments protéiques dans les systèmes mixtes intégrés polyculture-élevage en régions tropicales.
- Asati, A., Pichhode, M., & Nikhil, K. (2016). Effect of heavy metals on plants: an overview. *International Journal of Application or Innovation in Engineering & Management*, 5(3), 56-66.
- Ashraf, U., Kanu, A. S., Mo, Z., Hussain, S., Anjum, S. A., Khan, I., ... & Tang, X. (2015). Lead toxicity in rice: effects, mechanisms, and mitigation strategies—a mini review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 18318-18332.
- Asma, N., & Louhichi, B. (2016). Influence of ambient storage on germination and viability of wheat seeds (*Triticum Durum* Desf.). *Advances in Environmental Biology*, 10(2), 34-39.
- Bamagoos, A. A., Alharby, H. F., & Abbas, G. (2022). Differential uptake and translocation of cadmium and lead by Quinoa: A multivariate comparison of physiological and oxidative stress responses. *Toxics*, 10(2), 68.
- Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, 22(3), 266-272.
- Bates, L. S., Waldren, R. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
- Becuwe, P. P., Nancy, E. S. U., & lès Nancy, V. (2018) rôle de la superoxyde dismutase a manganèse et de la proteine damaged DNA binding 2 dans la croissance tumorale mammaire.
- Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Brice, K., Adjou Euloge, S., Edwige, D. A., Konfo, T. R., Christian, A. B. C., & Dominique, S. (2016). Problématique de la conservation du niébé (*Vigna unguiculata* (L.),

Walp) en Afrique de l'Ouest: étude d'impact et approche de solution. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 31(1), 4831-4842.

-Cecchi, M. (2008). Devenir du plomb dans le système sol-plante : Cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (Fève et Tomate) (Doctoral dissertation).

-Chanel, O., Dollfus, C., Haguenoer, J. M., Hartemann, P., Huel, G., Larroque, B., ... & Zmirou, D. (1999). Plomb dans l'environnement : quels risques pour la santé? (Doctoral dissertation, Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM)).

-Chaouche, K. (2020). Etude saisonnière de la variation du niveau de contamination des sols dans les régions Sahariennes Algériennes (31-33° N; 4-9° E) par les polluants chimiques et microbiologiques. « Géo-référencement des teneurs en polluants » (Doctoral dissertation, Université Kasdi Merbah-Ouargla).

-Chehrit-Hacid, F., Gaceb-Terrak, R., Aouici, N., & Kanoun, S. (2022). Growth of *Pistacia lentiscus* L. seedlings and tolerance to drought stress and hydrocarbon pollution. *Analele Universitatii Din Oradea, Fascicula Biologie*, 29(2).

-Cheriti, O., & Sahli, L. (2022). Utilisation des gastéropodes pulmonés terrestres comme traceurs de la pollution métallique des sols dans le bassin du Kebir Rhumel (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).

-Coulibaly, Z., Barro, A., Tignegre, J. B., Kiebre, Z., Batiemo, B. J., Dieni, Z., & Nanama, J. (2020). Évaluation des performances agronomiques de douze (12) variétés de niébé vert [*Vigna unguiculata* (L.) walp.] au Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*, 153(1), 15745-15755.

-Cun, P. (2013). Etude des HMAS A Zn²⁺/Cd²⁺/Co²⁺/Pb²⁺ chez *Arabidopsis thaliana*, du rôle physiologique à la structure (Doctoral dissertation, Aix-Marseille).

-Dalvi, A. A., & Bhalerao, S. A. (2013). Response of plants towards heavy metal toxicity: an overview of avoidance, tolerance and uptake mechanism. *Ann. Plant Sci*, 2(9), 362-8.

-Dar, M. I., Naikoo, M. I., Khan, F. A., Rehman, F., Green, I. D., Naushin, F., & Ansari, A. A. (2017). An introduction to reactive oxygen species metabolism under changing climate in plants. *Reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: role and regulation under abiotic stress*, 25-52.

-Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environmental and experimental botany*, 109, 212-228.

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

-Dias, M. C., Monteiro, C., Moutinho-Pereira, J., Correia, C., Gonçalves, B., & Santos, C. (2013). Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. *Acta physiologiae plantarum*, 35, 1281-1289.

- Dorey, S., Baillieul, F., Saindrenan, P., Fritig, B., & Kauffmann, S. (1998).** Tobacco class I and II catalases are differentially expressed during elicitor-induced hypersensitive cell death and localized acquired resistance. *Molecular plant-microbe interactions*, 11(11), 1102-1109.
- Durand, D., Gobert, M., Gatellier, P., Herbivores, U., & QuaPA, U. (2012).** Oxydation des lipides et des protéines des viandes au cours des processus de transformation: mécanismes, conséquences et prévention. *HORS-SÉRIE*.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Filipović-Trajković, R., Ilić, Z. S., Šunić, L., & Andjelković, S. (2012).** The potential of different plant species for heavy metals accumulation and distribution. *J Food Agric Environ*, 10(1), 959-964.
- Gange, A. (2000).** Arbuscular mycorrhizal fungi, Collembola and plant growth. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(9), 369-372.
- Garait, B. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin® (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
- Gerstel, A. (2015).** Stress oxydant chez E. Coli: maturation du régulateur transcriptionnel SoxR: effet du dioxyde de carbone sur le stress au peroxyde d'hydrogène (Doctoral dissertation, Aix-Marseille).
- Ghalmi, N. (2011).** Etude de la diversité génétique de quelques écotypes locaux de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. cultivées en Algérie (Doctoral dissertation).
- Ghori, N. H., Ghori, T., Hayat, M. Q., Imadi, S. R., Gul, A., Altay, V., & Ozturk, M. (2019).** Heavy metal stress and responses in plants. *International journal of environmental science and technology*, 16, 1807-1828.
- Goodrich, J. M., & Basu, N. (2012).** Variants of glutathione s-transferase pi 1 exhibit differential enzymatic activity and inhibition by heavy metals. *Toxicology in Vitro*, 26(4), 630-635.
- Gougbe-Semako, A., Noukpozoukou, M. S. P., Aboudou, K., Yessoufou, O. A. A., Chatigre, K. O., & Soumanou, M. M. (2020).** Effets des traitements phytosanitaires sur les propriétés physicochimiques fonctionnelles et organoleptiques des graines de niébé cultivées au Bénin. *Afrique Science*, 17(6), 124-137.
- Guo, T. R., Zhang, G. P., & Zhang, Y. H. (2007).** Physiological changes in barley plants under combined toxicity of aluminum, copper and cadmium. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 57(2), 182-188.
- Handin, R. I., Karabin, R. I. C. H. A. R. D., & Boxer, G. J. (1977).** Enhancement of platelet function by superoxide anion. *The Journal of clinical investigation*, 59(5), 959-965.
- Hao, M., Zuo, Q., Li, J., Shi, S., Li, B., & Zhao, X. (2022).** A comprehensive exploration on distribution, risk assessment, and source quantification of heavy metals in the multi-media environment from Shaying River Basin, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 231, 113190.

- Harmanescu, M., Alda, L. M., Bordean, D. M., Gogoasa, I., & Gergen, I. (2011).** Heavy metals health risk assessment for population via consumption of vegetables grown in old mining area; a case study: Banat County, Romania. *Chemistry Central Journal*, 5, 1-10.
- Henniche, S., & Krika, A. E. (2014).** Evaluation des teneurs actuelles en ETM (Zn et Cd) des sols et de la végétation spontanée de la décharge sauvage de Ziama Mansouriah (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
- Hsu, Y. T., & Kao, C. H. (2004).** Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. *Plant Growth Regulation*, 42, 227-238.
- INERIS, 2015.** Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Plomb, INERIS –DRC-15-136881-10941A, 92 p. (<http://rsde.ineris.fr/> ou <http://www.ineris.fr/substances/fr/>)
- Jaisson, S., Desmons, A., Gorisse, L., & Gillery, P. (2017).** Vieillesse moléculaire des protéines-Quel rôle en physiopathologie?. *médecine/sciences*, 33(2), 176-182.
- Jayasri, M. A., & Suthindhiran, K. (2017).** Effect of zinc and lead on the physiological and biochemical properties of aquatic plant *Lemna minor*: its potential role in phytoremediation. *Applied Water Science*, 7, 1247-1253.
- Jeanne, E., & Cordier, S. (2022).** Polluants ubiquitaires de l'environnement et neurodéveloppement de l'enfant. *Environnement, Risques Sante*, 21(1), 23-34.
- Jodelet, F., Carré, J. J., Evrard, C., Granier-Deferre, C., & Minot, A. (1975).** La représentation sociale de la pollution de l'environnement. *Bulletin de psychologie*, 28(316), 617-638.
- Juknys, R., Vitkauskaitė, G., Račaitė, M., & Vencloviėnė, J. (2012).** The impacts of heavy metals on oxidative stress and growth of spring barley. *Central european journal of biology*, 7, 299-306.
- Jutsz, A. M., & Gnida, A. (2015).** Mechanisms of stress avoidance and tolerance by plants used in phytoremediation of heavy metals. *Archives of Environmental Protection*, 41(4), 104.
- Kadi Samir, (2013).** Etude des propriétés structurale, texturale et application d'une argile locale de type 1:1 traitée thermiquement. Application à l'adsorption de Cd²⁺ et Pb²⁺
- Kapoor, D., & Singh, M. P. (2021).** Heavy metal contamination in water and its possible sources. In *Heavy metals in the environment* (pp. 179-189). Elsevier.
- Kastori, R., Petrović, M., & Petrović, N. (1992).** Effect of excess lead, cadmium, copper, and zinc on water relations in sunflower. *Journal of plant nutrition*, 15(11), 2427-2439.
- Khalaf, N. A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., & Farah, H. (2008).** Antioxidant activity of some common plants. *Turkish Journal of Biology*, 32(1), 51-55.
- Koch K.E. (1996).** Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology*. 47: 509–540.
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.

- Korn M., Peterek S., Mock H.P., Heyer A.G., Hinch D.K. (2008).** Heterosis in the freezing tolerance, and sugar and flavonoid contents of crosses between *Arabidopsis thaliana* accessions of widely varying freezing tolerance. *Plant Cell and Environment*. 31: 813- 827.
- Leyval, C., & Joner, E. J. (2001).** Bioavailability of heavy metals in the mycorrhizosphere. *Trace elements in the rhizosphere*, 165-185.
- Lichtenthaler, H. K. (1987).** [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press.
- Magné, C., & Larher, F. (1992).** High sugar content of extracts interferes with colorimetric determination of amino acids and free proline. *Analytical biochemistry*, 200(1), 115-118.
- Malecka, A., Piechalak, A., & Tomaszewska, B. (2009).** Reactive oxygen species production and antioxidative defense system in pea root tissues treated with lead ions: the whole roots level. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(5), 1053-1063.
- Malecka, A., Piechalak, A., Morkunas, I., & Tomaszewska, B. (2008).** Accumulation of lead in root cells of *Pisum sativum*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 629-637.
- Marok, M. A. (2014).** Implication des mécanismes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques dans la tolérance au stress hydrique chez deux variétés d'orge, Saïda et Express (Doctoral dissertation).
- Medfu Tarekegn, M., Zewdu Salilih, F., & Ishetu, A. I. (2020).** Microbes used as a tool for bioremediation of heavy metal from the environment. *Cogent Food & Agriculture*, 6(1), 1783174.
- Mehndiratta, P., Jain, A., Srivastava, S., & Gupta, N. (2013).** Environmental pollution and nanotechnology. *Environment and Pollution*, 2(2), 49.
- Messaoud, N., & akrou, K. (2019).** Etude de l'effet du plomb sur quelques paramètres biochimiques chez les céréales (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).
- Michalak, A. (2006).** Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish journal of environmental studies*, 15(4).
- Monneveux, N., Nemmar (1986).** Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement .
- Nadgórska-Socha, A., Kafel, A., Kandziora-Ciupa, M., Gospodarek, J., & Zawisza-Raszka, A. (2013).** Accumulation of heavy metals and antioxidant responses in *Vicia faba* plants grown on monometallic contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 1124-1134.
- Navari-Lazzo F., Quartacci M F., (2001).** Phytoremediation of metals tolerance mechanisms against oxidative stress. *Biotechnol.* 13, 73-85.
- Ozyigit, I. I., Filiz, E., Vatansever, R., Kurtoglu, K. Y., Koc, I., Öztürk, M. X., & Anjum, N. A. (2016).** Identification and comparative analysis of H₂O₂-scavenging enzymes (ascorbate peroxidase and glutathione peroxidase) in selected plants employing bioinformatics approaches. *Frontiers in Plant Science*, 7, 301.

- Papoyan, A., & Kochian, L. V. (2004).** Identification of *Thlaspi caerulescens* genes that may be involved in heavy metal hyperaccumulation and tolerance. Characterization of a novel heavy metal transporting ATPase. *Plant Physiology*, 136(3), 3814-3823.
- Piechalak, A., Tomaszewska, B., Baralkiewicz, D., & Malecka, A. (2002).** Accumulation and detoxification of lead ions in legumes. *Phytochemistry*, 60(2), 153-162.
- Pike, S. M., Adam, A. L., Pu, X. A., Hoyos, M. E., Laby, R., Beer, S. V., & Novacky, A. (1998).** Effects of *Erwinia amylovora* harpin on tobacco leaf cell membranes are related to leaf necrosis and electrolyte leakage and distinct from perturbations caused by inoculated *E. amylovora*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 53(1), 39-60.
- Piotrowska, A., Bajguz, A., Godlewska-Żyłkiewicz, B., & Zambrzycka, E. (2010).** Changes in growth, biochemical components, and antioxidant activity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae) exposed to cadmium and lead. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 58, 594-604.
- Pourrut, B. (2008).** Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba* (Doctoral dissertation).
- Rajput, V. D., Harish, Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., & Mandzhieva, S. (2021).** Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, 10(4), 267.
- Reddy, A. M., Kumar, S. G., Jyothsnakumari, G., Thimmanaik, S., & Sudhakar, C. (2005).** Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) and bengalgram (*Cicer arietinum* L.). *Chemosphere*, 60(1), 97-104.
- Remon, E. (2006).** Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques: vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution (Doctoral dissertation, Université Jean Monnet-Saint-Etienne).
- Remond, D., & Walrand, S. (2017).** Les graines de légumineuses : caractéristiques nutritionnelles et effets sur la santé. *Innovations Agronomiques*, 60, np.
- Samardakiewicz, S., & Woźny, A. (2000).** The distribution of lead in duckweed (*Lemna minor* L.) root tip. *Plant and Soil*, 226(1), 107-111.
- Schreck, E., Foucault, Y., Sarret, G., Sobanska, S., Cécillon, L., Castrec-Rouelle, M., ... & Dumat, C. (2012).** Metal and metalloid foliar uptake by various plant species exposed to atmospheric industrial fallout: mechanisms involved for lead. *Science of the Total Environment*, 427, 253-262.
- Sharma, P., & Dubey, R. S. (2005).** Lead toxicity in plants. *Brazilian journal of plant physiology*, 17, 35-52.
- Sharma, R. K., & Agrawal, M. (2005).** Biological effects of heavy metals: an overview. *Journal of environmental Biology*, 26(2), 301-313.
- Sharma, S. S., & Dietz, K. J. (2006).** The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of experimental botany*, 57(4), 711-726.

- Shaw K., Kumar R G., Verma S., Dubey R S., (2001).** Effect of Cadmium and activities of antioxydant enzymes in growing rice seedling. *Plant. Sci.*161, 11351144.
- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y., & Yoshimura, K. (2002).** Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of experimental botany*, 53(372), 1305-1319.
- Singh, B. K., Sharma, S. R., & Singh, B. (2010).** Antioxidant enzymes in cabbage: variability and inheritance of superoxide dismutase, peroxidase and catalase. *Scientia Horticulturae*, 124(1), 9-13.
- Stone, D., Jepson, P., & Laskowski, R. (2002).** Trends in detoxification enzymes and heavy metal accumulation in ground beetles (Coleoptera: Carabidae) inhabiting a gradient of pollution. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 132(1), 105-112.
- Sytar, O., Kumar, A., Latowski, D., Kuczynska, P., Strzalka, K., & Prasad, M. N. V. (2013).** Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. *Acta physiologiae plantarum*, 35, 985-999.
- Taffouo, V. D., Etamé, J., Din, N., Nguelemani, M. L. P., Mouna, Y., Eyambé, R. F. T., & Akoa, A. (2008).** Effets de la densité de semis sur la croissance, le rendement et les teneurs en composés organiques chez cinq variétés de niébé (*Vigna*). *Journal of Applied Biosciences*, 12, 623-632.
- Thomine, S., Wang, R., Ward, J. M., Crawford, N. M., & Schroeder, J. I. (2000).** Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in *Arabidopsis* with homology to Nramp genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(9), 4991-4996.
- Tóth, G., Hermann, T., Da Silva, M. R., & Montanarella, L. J. E. I. (2016).** Heavy metals in agricultural soils of the European Union with implications for food safety. *Environment international*, 88, 299-309.
- Vogel-Mikuš, K., Drobne, D., & Regvar, M. (2005).** Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonisation of pennycress *Thlaspi praecox* Wulf.(Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. *Environmental Pollution*, 133(2), 233-242.
- Vries, W. D., Römken, P. F. A. M., Leeuwen, T. V., & Bronswijk, J. J. B. (2002).** Heavy metals. In *Agriculture, hydrology and water quality* (pp. 107-132). Wallingford UK: CABI Publishing.
- Wolejko, E., Jabłońska-Trypuć, A., Wydro, U., Butarewicz, A., & Łozowicka, B. (2020).** Soil biological activity as an indicator of soil pollution with pesticides—a review. *Applied Soil Ecology*, 147, 103356.
- Wu, Z., Bañuelos, G. S., Lin, Z. Q., Liu, Y., Yuan, L., Yin, X., & Li, M. (2015).** Biofortification and phytoremediation of selenium in China. *Frontiers in plant science*, 6, 136.
- Wu, Z., Bañuelos, G. S., Lin, Z. Q., Liu, Y., Yuan, L., Yin, X., & Li, M. (2015).** Biofortification and phytoremediation of selenium in China. *Frontiers in plant science*, 6, 136.

-Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International journal of health sciences*, 12(3), 88.

-Yu, G., Ma, J., Jiang, P., Li, J., Gao, J., Qiao, S., & Zhao, Z. (2019, August). The mechanism of plant resistance to heavy metal. In *IOP conference series: earth and environmental science* (Vol. 310, No. 5, p. 052004). IOP Publishing.

-Zhao, H., Guan, J., Liang, Q., Zhang, X., Hu, H., & Zhang, J. (2021). Effects of cadmium stress on growth and physiological characteristics of sassafras seedlings. *Scientific reports*, 11(1), 9913.

Annexes

ANNEXE 1

Réactifs utilisés dans les dosages

1- Réactif à l'anthrone

- * Acide sulfurique à 91 %100 ml
- * Anthrone0.2 g

Conserver au froid dans un flacon brun.

2- Réactif de Bradford

- * Bleu de coomasie (G250).....10 mg
- * Acide orthophosphorique à 85 %10 ml
- * Ethanol à 95 %5 ml

Compléter le tout à 100 ml avec l'eau distillée.

3- Réactif à la ninhydrine à 1 % pour le dosage de la proline

- * 1g de ninhydrine dans l'acide acétique glacial + eau, 60/40 V/V

4- Tampon Tris-HCl

- * Tris-HCl0.1 M.
- * Sucrose 10 %.
- * β -Mercaptoéthanol 0.05 %

À pH 8.1.

5- Tampon phosphate

- * 50 mM de phosphate de sodium dibasique (Na_2HPO_4)
- * phosphate de sodium monobasique (NaH_2PO_4)

À pH 7.5.

ANNAXE 2

Gammes étalon

Tableau V: Gamme étalon des sucres éthanolosolubles foliaires.

Concentration en glucose mg.ml⁻¹	0	20	40	60	80	100
Densité optique	0	0,16	0,342	0,484	0,6	0,74

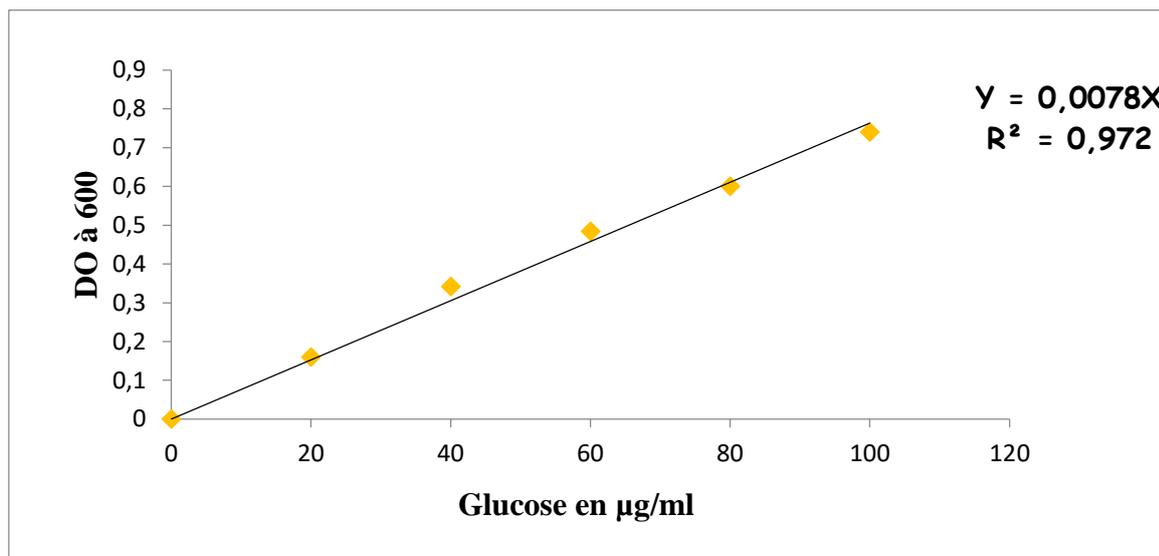


Tableau VII: Gamme étalon des protéines hydrosolubles foliaires

Concentrations en BSA mg.ml⁻¹	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1	1,2	1,6	1,8	2
DO	0	0,042	0,194	0,347	0,373	0,524	0,651	0,875	0,909	0,954

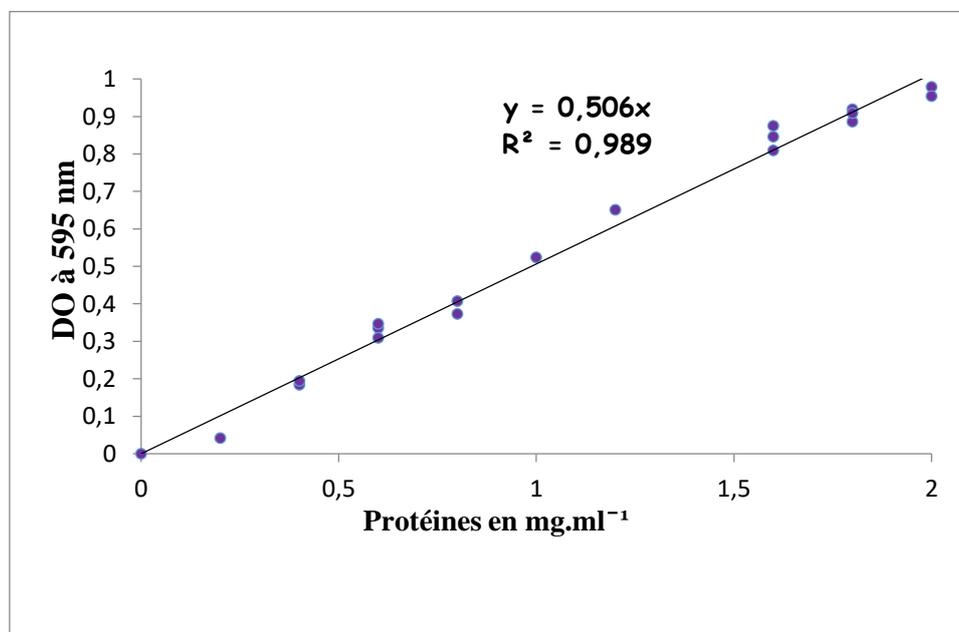
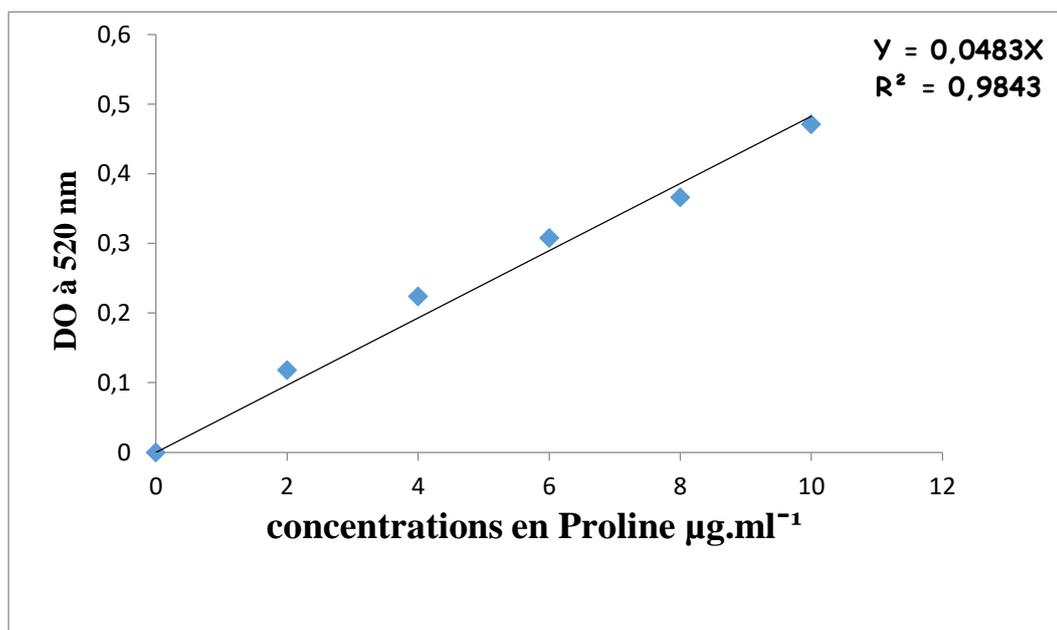


Tableau X: Gamme étalon de la proline foliaire.

Concentrations en proline $\mu\text{g.ml}^{-1}$	0	2	4	6	8	10
DO	0	0,118	0,224	0,308	0,366	0,471



Résumé

Les métaux lourds, notamment le plomb, représentent une menace majeure en tant que polluants. Leur accumulation dans les sols constitue un risque sérieux pour la production agricole, car ils ont des effets néfastes sur la croissance des plantes, la qualité des produits alimentaires et l'environnement. Les plantes sont sensibles à la présence du plomb dans le sol, sa toxicité se manifeste par l'altération leur croissance et leur développement. Le plomb fait partie des ions métalliques, mais qui n'est pas indispensable aux processus vitaux des plantes. Nos résultats ont montré les effets négatifs du plomb sur, la croissance, la teneur en protéines et la teneur en chlorophylle et en caroténoïdes des plantes. Pour la teneur en sucres éthanolosolubles et en proline, on assiste à une augmentation de ces teneurs en présence du plomb qui exerce une influence négative sur la physiologie de la plante. Le stress oxydatif, s'est traduit par une forte augmentation de l'activité enzymatique de la catalase suite à l'accumulation d'espèces réactives d'oxygène en présence du Pb, des altérations au niveau l'intégrité des membranes cellulaires traduites par la fuite des électrolytes.

Mots clés : Pollution, Plomb, *Vigna unguiculata*, Proline, stress oxydatif, catalase.

Abstract

Heavy metals particularly lead; pose a major threat as pollutants. Their accumulation in soils poses a serious risk to agricultural production, as they have detrimental effects on plant growth, the quality of food products, and the environment. Plants are sensitive to the presence of lead in the soil, and its toxicity is been manifested by impairing their growth and development. Lead is one of the metallic ions that is not essential for vital plant processes. Our results have demonstrated the negative effects of lead on plant growth, protein content, chlorophyll content, and carotenoid content. The presence of lead leads to an increase in ethanol-soluble sugars and proline content, which negatively influences plant physiology. Oxidative stress is been reflected by a significant increase in catalase enzymatic activity due to the accumulation of reactive oxygen species in the presence of lead, as well as alterations in the integrity of cell membranes, resulting in electrolyte leakage.

Keywords: Pollution, Lead, *Vigna unguiculata*, Proline, oxidative stress, catalase.

ملخص

المعادن الثقيلة، بما في ذلك الرصاص، تشكل تهديداً كبيراً كملوثات. تراكمها في التربة يشكل خطراً جدياً على الإنتاج الزراعي، حيث لها تأثيرات ضارة على نمو النباتات وجودة المنتجات الغذائية والبيئة. النباتات حساسة لوجود الرصاص في التربة، وسمية الرصاص تتجلى في تشوه نموها وتطورها. الرصاص هو جزء من أيونات المعادن، لكنه غير ضروري لعمليات الحياة في النباتات. أظهرت نتائجنا التأثيرات السلبية للرصاص على النمو ومحتوى البروتين ومحتوى الكلوروفيل والكاروتينويدات في النباتات. بالنسبة لمحتوى السكر المذاب في الإيثانول والبرولين، يشهد زيادة في هذه المحتويات في وجود الرصاص الذي يؤثر سلباً على فيزيولوجيا النبات. التوتر التأكسدي يتجلى في زيادة كبيرة في النشاط الإنزيمي للكاتالاز بسبب تراكم أنواع الأكسجين المتفاعلة في وجود الرصاص، وتشوهات في سلامة الأغشية الخلوية تتجلى في تسرب الكهرليات.

كلمات مفتاحية: التلوث، رصاص، *Vigna unguiculata*، برولين، توتر أكسدي، كاتالاز