

BIOACCUMULATION DU PLOMB ET SES EFFETS SUR LA GERMINATION ET CERTAINS PARAMÈTRES MOLÉCULAIRES DE LA CROISSANCE CHEZ *TRITICUM DURUM* DÉVELOPPÉ SUR UN MILIEU CONTRÔLÉ

ROUIBI. A¹., SAIDI. F¹.,
CHERI. H.S¹.,
BOUKHATEM. N¹.,
BOUTOUMI. H².

1- laboratoire de Biochimie
Département de Biologie,
Faculté des Sciences Agro-
vétérinaires et Biologiques.
Université SAAD DAHLAB –
BLIDA - ALGERIE.

2- Laboratoire de
Microbiologie Industrielle,
Département de Chimie
Industrielle, Faculté des
Sciences de l'Ingénieur.
Université SAAD DAHLAB -
BLIDA.

Correspondance : ROUIBI
Abdelhak, Département de
Biologie, Université de
Blida, Route de Soumaa
09000 BLIDA, ALGERIE

E- Mail : a_rouibi@yahoo.fr

Résumé.

Les besoins des végétaux en oligo-éléments s'inscrivent dans des intervalles compris entre un seuil de carence et un seuil de toxicité.

Les végétaux captent aussi dans leur environnement des éléments en traces sans fonction métabolique connue à ce jour (par exemple Cd, Hg, Pb, As, etc.) et considérés de ce fait comme non essentiels. Les aliments d'origine végétale contribuent à l'imprégnation des animaux et de l'homme par ces éléments en traces.

L'absorption du plomb, son accumulation dans les parties comestibles des récoltes, et son transport par le biais de la chaîne alimentaire font actuellement l'objet de nombreuses recherches.

Notre étude a été entreprise dans le but de déterminer les effets de quatre doses de nitrate de plomb ($0M - 10^{-4}M - 10^{-3}M - 10^{-2}M$) sur :

- quelques paramètres physiologiques de la germination (pourcentage de la germination et le temps moyen de la germination), et d'évaluer durant les premiers stades de la croissance les perturbations engendrées par ces mêmes concentrations sur :

- La teneur en pigments, notamment la teneur en chlorophylle a et en chlorophylle b.

- La biosynthèse de certaines substances organiques telle que la proline, qui semble constituer une réponse générale au stress par le plomb.

- La bioaccumulation du plomb au niveau du différent compartiment végétale.

Les résultats obtenus montrent que le plomb exerce un effet dépressif sur la germination, et retarde cette dernière dans le temps.

Le plomb diminue la teneur en pigments. Les teneurs en pigments les plus faibles sont enregistrées au niveau du traitement $10^{-2}M$.

On note une légère élévation de la teneur en chlorophylle a et b au niveau des traitements $10^{-3}M$ et $10^{-4}M$ par rapport au témoin.

Les doses $10^{-3}M$ et $10^{-4}M$ en nitrate de plomb induisent une augmentation importante du contenu des feuilles en proline.

Le dosage du plomb, montre l'existence d'une corrélation positive entre la teneur en plomb dans les feuilles et sa concentration dans la solution nutritive

Mots clés : accumulation, *Triticum durum*, croissance, germination, pigment, plomb, proline, stress

Introduction

La pollution est la conséquence du développement industriel mondial. Ses conséquences menacent la santé de l'homme, de l'animal et de la productivité des récoltes. Face au danger qui ronge l'environnement, plusieurs organisations à travers le monde telles que l'UNESCO, la FAO ou encore l'OMS et la Banque Mondiale ont commencé à prendre en charge sérieusement ce problème (Prud'homme ; 1980). Les problèmes de pollution en Algérie se posent avec acuité. Il est nécessaire de noter que ses problèmes n'ont commencé à être pris en considération qu'au début des années 90 avec la signature de la convention de Rio. L'expansion extraordinaire qu'a connue l'industrie chimique, au cours de cette dernière année, se traduit par la mise en circulation dans la biosphère d'innombrables composés minéraux ou organiques, de toxicité souvent élevée. Parmi ces composés les métaux lourds et notamment le plomb, qui constitue après le mercure le plus préoccupant de ces polluants par suite de ces effets éco-toxicologiques (Ramade, 1979).

Notre étude consiste à déterminer les effets éco-toxicologiques causés par le plomb sous forme de nitrate de plomb sur certains paramètres physiologiques et moléculaires de blé dur (*Triticum durum*).

Ce travail comprend deux volets :

Le premier volet porte sur la détermination des effets de nitrate de plomb ($Pb(NO_3)_2$) sur les pourcentage et le temps moyen de la germination.

Le deuxième volet, consiste à déterminer les effets de ces mêmes concentrations sur certains paramètres moléculaires de la croissance des jeunes plantules notamment, la

teneur en pigments, l'accumulation de la proline et la détermination de la bioaccumulation du plomb au niveau du végétale.

MATERIEL ET METHODES

L'effet de 4 concentrations de nitrate de plomb (0 M , 10^{-4} M , 10^{-3} M et 10^{-2} M) sur la germination et la croissance de blé variété « Waha » a été étudié.

Conduite de l'essai de la germination :

Les semences choisies sont placées dans des boîtes de Pétri à raison de 10 graines par boîte. Chaque boîte de Pétri reçoit 10 ml d'eau (témoin), et 10 ml de la solution de nitrate de plomb correspondante pour les autres traitements.

Chaque traitement contient 60 graines, deux répétitions ont été réalisées en même période. Le pourcentage de et le temps moyen de germination ont été calculés.

Conduite de l'essai de la croissance :

Les essais de la croissance sont réalisés sur des jeunes plantules transplantées après germination sur des pots en polyéthylène contenant du gravier à raison de 5 plantules par pot et reçoivent une solution nutritive équilibrée (solution de Hoagland).

A partir de la deuxième semaine, les traitements stressés par le plomb reçoivent dans la solution nutritive la concentration correspondante en nitrate de plomb à raison de 3 fois par semaine. Plusieurs paramètres sont estimés :

La teneur en pigment, le dosage de la proline et la bioaccumulation du plomb.

Dosage des pigments :

Le dosage des pigments a été réalisé selon la méthode de MacKinney (1941). Le dosage de la proline est

effectué selon la méthode de Troll et Lindsley (1954).

Dosage du plomb :

On calcine 2gr de matière sèche de la racine dans un four à moufle à 600°C pendant 2 heures (minéralisation). Les cendres sont solubilisées dans 20ml d'une solution d'acide nitrique à 2% et le dosage de plomb s'effectue par la spectrophotométrie d'absorption atomique à la longueur d'onde 217nm.

RESULTATS ET DISCUSSION :

Effet du plomb sur le pourcentage de la germination :

Le pourcentage de germination atteint 100% dans le traitement témoin.

Des pourcentages de 92%, 80% et 62% ont été enregistrés respectivement dans les traitements 10^{-4}M , 10^{-3}M et 10^{-2}M . La comparaison du temps moyen de la germination des graines du lot témoin avec celui des autres traitements a montré que le plomb retarde la germination dans le temps. Le temps moyen de germination enregistré pour le témoin est de 1j. Ce temps a atteint 1,25j, 1,75j et 2,25j respectivement pour les traitements 10^{-4}M , 10^{-3}M , et 10^{-2}M . La diminution du pourcentage et le temps moyen de la germination est due à l'effet inhibiteur du plomb. Ce métal présente une affinité vis-à-vis les protéines cellulaires, notamment les enzymes qui contrôlent le processus de la germination (Shalini, 2003).

L'effet inhibiteur du nitrate de plomb sur la germination a été souligné par plusieurs auteurs (Rouibi, 1992 ; Xiong, 1997).

La concentration 10^{-2}M inhibe la germination des graines du *Triticum durum* et de *Phaseolus vulgaris*, et déshydrate les tissus (Rouibi, 1992).

La concentration 1000µg /ml réduit à 43,33% le pourcentage de la germination de *Brassica pekinensis*. Cette même concentration inhibe l'élongation racinaire et réduit la biomasse (Xiong, 1997).

Effet du plomb sur la teneur en pigments :

Les teneurs en chlorophylle a et b les plus faibles sont enregistrées au niveau du traitement 10^{-2} M (20,32µg/ml pour la chl a et 35,11µg/ml pour la chl b) et ceci après

1 mois de la germination. On note aussi une augmentation de la teneur en chl a et en chl b dans les traitements 10^{-3} M et 10^{-4} M comparative-ment au témoin.

La teneur en pigment après 45j montre l'absence de variations notables entre le témoin et les autres traitements. Une légère augmentation de la teneur en chl a et en chl b a été signalée dans les traitements 10^{-3} M et 10^{-4} M. Cette augmentation est peut être due à l'effet stimulateur des faibles doses de plomb sur le métabolisme et la croissance.

L'effet stimulateur des faibles doses de plomb sur la teneur en pigments a été signalé par Schichiro et al., (2001) dans leurs travaux réalisés sur le riz et le tournesol développés sur des sols contenant des traces de ce métal.

Une diminution de la teneur en pigment a été notée sur des plantules d'haricots développées sur un milieu nutritif contenant du $PbCl_2$ à des concentrations 10^{-3} M et 10^{-4} M (Buryzinski, 1984).

Le même auteur a souligné l'effet inhibiteur de ces mêmes concentrations sur la biosynthèse de l'acide γ aminolévulinique, le précurseur de la biosynthèse de la chlorophylle.

Selon certains auteurs (Balsberg Pahlsson, 1989 ; Kumar et al. 1991 ; Fargasova, 1994 ; Xiong, 1997c ; Bazzaz et Rolfe, 1975) le plomb inhibe la photosynthèse et perturbe

le transport des électrons à travers la chaîne photosynthétique.

Il est à signaler que la croissance des jeunes plantules exposées aux concentrations 10^{-2} M en nitrate de plomb est arrêtée, l'arrêt de la croissance peut être expliqué par l'inhibition exercée par ce métal sur les enzymes et le métabolisme générale de la plante. Plusieurs auteurs ont souligné l'effet accélérateur du Pb sur l'oxydation cellulaire et l'apparition des radicaux -OH libres et les peroxydes d'hydrogènes. Ces radicaux libres induisent des dommages importants au niveaux des molécules, tel que les lipides membranaires, les protéines, les pigments, les enzymes et les acides nucléiques (Stohs et Bagchi, 1995 ; Foyer et al., 1997 ; Clijsters et al., 1999 ; Navari-lazzo et Quartacci, 2001 ; Shaw et al., 2001).

Effet de plomb sur l'accumulation de la proline :

Nos résultats montrent après 1 mois de la germination que la teneur la plus faible en proline (8,17µg/l) a été enregistrée dans le traitement témoin. La quantité de proline tend à augmenter en fonction de l'augmentation de la dose en nitrate. La valeur la plus élevée en proline (14,24 µg) a été signalée dans le traitement 10^{-2} M.

Le dosage de la proline après 45j montre la valeur la plus élevée en proline a été enregistrée dans le traitement 10^{-2} M.

La proline participe au maintien de la balance de la force osmotique (Bouzoubaa et al., 2001). Elle participe à la préservation de l'intégrité membranaire (Derbyshire, 1974). Elle semble intervenir dans la stabilisation des structures cytoplasmiques soumises au stress. La présence de la proline diminue les peroxydations lipidiques en conditions de stress (Alia et al., 1991).

Bioaccumulation du plomb :

Nos résultats montrent que les racines du traitement 10^{-2} M accumulent une quantité importante de plomb (44µg/l). Cette teneur atteint 7,87µg/g, 7,40µg/g et 1,2µg/g dans les traitements 10^{-3} M, 10^{-4} M et le témoin respectivement.

La bioaccumulation du plomb varie selon la nature géochimique des sols et la capacité bioaccumulatrice de certaines espèces (Kabata-Pendias et Pendias 1984 ; Nwosu et al. 1995 ; Sawidis et al. 1995 ; Xiong 1997b).

Il a été souligné que les plantes développées sur un milieu nutritif ou sur des sols contenant des concentrations élevées en plomb accumulent ce métal dans leur organe. L'accumulation est importante dans les racines que dans les tiges (Broyer et al., 1972 ; Bharti et Singh, 1993 ; Kumar et al., 1993).

La bioaccumulation du Pb par les espèces tolérantes est moindre par rapport aux espèces non tolérantes (Sudhakar et al., 1992 ; Liu et al., 2004).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Alia-Saradhi P. P. et Mohanty, P. 1991. Proline enhances primary photochemical activities in isolated thylakoid membrane of *Brassica juncea* by arresting photoinhibitory damage. Bioch. Bioph. Res. Comm., 181(3). 1238-1244 pp.
- 2- Balsberg Pahlsson, A. M. 1989. Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. Water Air Soil pollut 66 ; 193-171
- 3- Bazzaz, F. A. Carlson, R. W. et Rolfe G. L. 1975. Inhibition of corn and sunflower photosynthesis by lead, Physiol. Plant, 34 : 326-329.
- 4- Bharti, N., Singh, R. P., 1993. Growth and nitrate reduction by *Sesamum indicum* cv PB-1 correspond differentially to lead. Phytochemistry 33, 531-534.

- 5- Bouzoubaa, Z. EL Mourid, M. Karrou, M. et EL Gharous, M., 2001. Manuel d'analyse chimique et biochimique des plantes. Eds INRA, Maroc.
- 6- Clijsters, H., Cuypers, A., Vangronsveld, J., 1999. Physiological responses to heavy metals in higher plants : defense against oxidative stress. Z. Naturforsch. 54, 730-734.
- 7- Darbyshire, B., 1974. The function of the carbohydrate units of tree fungal enzymes in their resistance to deshydration. Plant. Physiol 54 : 717-721.
- 8- Fargasova, A., 1994. Effect of Pb, Cd, Hg, As and Cr on germination and root growth of *Sinapsis alba* seeds. Bull. Environ. Contam. Toxicol 25; 452.
- 9- Foyer, C. H., Lopez-Delgado, H., Dat, J. F., Scott, I. M., 1997. Hydrogen peroxide and glutathion-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling. Physiol. Plant 100, 241-254.
- 10- Godbold, D. Y., Ketner, C., 1991. Lead influences root growth and mineral nutrition of *Picea abies* seedling. J. Plant. Physiol. 139, 95-99.
- 11- Kabata, A., Pendias, H., 1984. Trace element in the soils and plants. CRO Press, Florida.
- 12- Kumar, G., Singh R.P, Sushila., 1991. Nitrate assimilation and biomass production in *Sesamum indicum* L. seedling in a lead enriched environment. Water Air Soil Pollution 66 : 163-171
- 13- Liu, J., Li, K., Xu, J., Zhang, Z., Ma, T., Lu, X., Yang, J., Zhu, Q., 2004. Lead toxicity, uptake and translocation in different rice cultivars. Plant. Sci. 165, 793-802.
- 14- Mac kinney j., 1941 in physiologie végétale par D. Laval-Martin et P. Mazliak., 1979. Ed Hermann Paris.
- 15- Marek, Burzynski. 1984. Influence of lead on the chlorophyll content and on initial steps of its synthesis in greening cucumber seedling. Depart of Plant Physiology. Inst of Wiaclow. Poland.
- 16- Navari-Lazzo, F., Quartacci, M.F., 2001. Phytoremediation of metals tolerance mechanisms against oxidative stress. Biotechnol. 13, 73-85.
- 17- Nwosu, J.U, Harding, A.K, Linder G., 1995. Cadmium and lead uptake by edible crop grown in a silt loam soil. Bull Environ. Contam. Toxicol. 54; 570-578
- 18- Prud'Homme, R., 1980. Le ménagement de la nature. Des politiques contre la pollution. Ed Dunod. 212 pages.
- 19- Ramade, F., 1979. Ecotoxicologie, 2^{ème} édition, Masson. Paris.
- 20- Rouibi, A., 1992. Etude des effets du nitrate de plomb sur la germination et la productivité primaire nette chez *Phaseolus vulgaris*. Thème de Magister en Ecotoxicologie Université d'Annaba Algérie.
- 21- Sawidis, T., Marnasidis, A., Zachariadis, G., Stratis, J., 1995. A study of air pollution with heavy metals in Thessalonik city (Greece) using trees as biological indicators. Arch. Environ. Contam. Toxicol 28 ; 118-124
- 22- Shalini, R.S. 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. Plant Science, 645-655.
- 23- Shinichiro Shimbo, Zuo-Wen Zhang, Takao Watanabe, Haruo Nakatsuka, Naoko-Inoguchi, Kae Higashikawa, Masayuki Ikeda – Cadmium and lead content in rice and other cereal products in Japan in 1998-2000. 2001. The Science of Total Environment 281 ; 165-175.
- 24- Shaw, K., Kumar, R. G., Verma, S., Dubey, R. S., 2001. Effect of Cadmium and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedling. Plant. Sci. 161, 1135-1144.
- 25- Singh, R.P., Tripathi, R.D., Sinha, S.K., Maheswari, R., Srivastava, H.S., 1997. Response of higher plants to lead contamination environment. Chemosphere 32, 2467-2493.
- 26- Stohs, S. J., Bagchi, D., 1995. Oxidative mechanism in the toxicity of metal ions. Free Rad. Biol. Med. 18, 321-336.
- 27- Sudhakar, C., Syamalabai, L., Veeranjanyulu, K., 1992. Lead tolerance of certain legume species grown on lead ore tailings. Agric. Ecosyst. Environ. 41, 253-29
- 28- Troll, W. et Lidsley, J., 1954. A photometric method for determination of proline. J. Biol. Chem. 655-660p.
- 29- Xiong. Z. T., 1997. Lead uptake and effects on seed germination and plant growth in a Pb hyperaccumulator *Brassica pekinensis* Rupr. Department of Environmental Science, Wuhan University, Wuhan, Hubei 430072. People's Republic of China. Bull. Environ. Contam. Toxicol. (1998) 60:285-291.
- 30- Xiong Z.T., 1997c. Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleracens* L. Environ. Pollut, 97 (in press).
- 31- Sudhakar, C., Syamalabai, L., Veeranjanyulu, K., 1992. Lead tolerance of certain legume species grown on lead ore tailings. Agric. Ecosyst. Environ. 41, 253-29-61.