

**Phytotoxicité du plomb sur la physiologie de deux variétés de la fève
(*Vicia faba*)**

Bouziani El Hadj¹⁻², Reguieg Yassad Houcine Abdelhakim¹, Adda Ahmed²,
Benouis Slimane¹, Ouaini Abderrahmane¹, Nouri Tayeb¹, DjoudiAbdehak¹

¹ Laboratoire de biodiversité et conservation des eaux et des sols, Université de Mostaganem.
E-mail: eh.bouziani@gmail.com

² Université Frères Mentouri Constantine1

³ Laboratoire de Agro-biotechnologie et de nutrition en zones semi-arides, Université de Tiaret

Phytotoxicité du plomb sur la physiologie de deux variétés de la fève (*Vicia faba*)

ملخص

زادت الأنشطة البشرية بشكل ملحوظ من إطلاق العديد من الجزيئات السامة للنباتات في البيئة. من بين هذه الجزيئات، تحلل المعادن الثقيلة مكانا هاما. بسبب التعرض للمعادن انخفاضا شديدا في نمو النبات. يمكن أن تلاحظ سمية المعادن في النباتات على مستوى الجذور وعلى مستوى الأجزاء الهوائية، هذه السمية يمكن التعبير عنها على المستوى الجزيئي وعلى مستوى الأنشطة الخلوية على النبات بأكمله. من أجل دراسة ذلك تمت التجربة على صنفين من نبات الفول *Vicia faba* سيدي عيش وسوبر أفاودولسي. تم تطبيق التجربة على تربة مشكلة وملوثة إراديا بثلاث جرعات من نترات الرصاص $[Pb(NO_3)_2]$ ، 0، 500 و 1000 ج م. هدفنا هو اتباع سلوك النبات ضد هذا الإجهاد من خلال تقييم المعطيات الفسيولوجية للنبات تحت تأثير الإجهاد بالرصاص. النتائج تكشف عن انخفاض في معايير الإنتاجية للكتلة الحيوية (حدة التمثيل الضوئي، البروتينات الكلية)، مع زيادة فيمضامات الضغط الاسموزي (السكريات المذابة، والبرولاين). تظهر هذه النتائج أن إنتاجية الفول الحيوية يتم تعديلها بشدة بعد التعرض للنبات للرصاص عن طريق تعطيل وظائفه الداخلية.

الكلمات المفتاحية: السمية النباتية - الرصاص - الضغط - التنوع - الفاصوليا - المعلمات الفسيولوجية

Abstract

Human activities have significantly increased the release of various toxic molecules for plants in the environment. Among the molecules introduced, heavy metals occupy a significant place. Following exposure to metals, the growth of the plant is severely reduced and symptoms of impairment may occur. Phytotoxicity can be expressed in roots and aerial parts and is characterized by molecular, and metabolic at different levels of organization of the whole plant. The study was realised on two varieties of bean *Vicia faba* Sidi Aïch and Super Aguadulce. The device was installed on artificially contaminated remnant substrate by the addition of three doses of lead, 0, 500 and 1000 ppm as lead nitrates $[Pb(NO_3)_2]$. Our objective is to follow the behavior of the plant against this stress by evaluating the physiological parameters of the plant under the effect of lead contamination. The results reveal a decrease in productivity parameters, (photosynthetic pigments, total proteins), with an increase in osmoregulators (proline and soluble sugars). These results show that bean production is strongly modified by the disruption of its internal physiology following exposure to lead.

Keywords: Phytotoxicity – lead – stress – variety – faba bean - physiological parameters.

Résumé

Les activités humaines ont considérablement accru la libération de diverses molécules toxiques pour les végétaux dans l'environnement. Parmi les molécules introduites, les métaux lourds occupent une place non négligeable. Suite à l'exposition aux métaux la croissance de la plante est sévèrement réduite et des symptômes de déficience peuvent se manifester. La phytotoxicité peut s'exprimer au niveau racinaire et au niveau des parties aériennes et se caractérise par des réponses moléculaire, métaboliques et à différents niveaux d'organisation de la plante entière. L'étude a été menée sur deux variétés de fève *Vicia faba* Sidi Aïch et Super Aguadulce. Le dispositif a été installé sur substrat remanié contaminé artificiellement par l'addition de trois doses de plomb 0, 500 et 1000 ppm sous forme de nitrates de plomb $[Pb(NO_3)_2]$. Notre objectif de travail est de suivre le comportement de la plante vis-à-vis ce stress en évaluant les paramètres physiologiques de la plante sous l'effet de la contamination par le plomb. Les résultats révèlent une diminution des paramètres de la productivité, pigments photosynthétiques, protéines totales, avec une augmentation des osmorégulateurs (proline et sucres solubles). Ces résultats montrent que la production de la fève est fortement modifiée par la perturbation de sa physiologie interne suite à l'exposition au plomb.

Mots clé : Phytotoxicité – plomb – stress – variété - fève - paramètres physiologiques.

1. INTRODUCTION

Un des problèmes majeurs de l'environnement est la contamination de l'atmosphère, des eaux et des sols par le plomb (Pb). Ce métal ne peut être biodégradé et donc persiste dans l'environnement pendant de longues périodes.

Considéré comme physiologiquement non utile (Tremel-Shaud et Feix, 2005), le Pb est potentiellement toxique pour les organismes vivants, et il peut induire une dégradation de l'activité biologiques (Dumat et al., 2006) et de la qualité des eaux et des plantes, même à de faibles concentrations. Il conduit à l'inhibition de la germination, l'élongation racinaire, la diminution de la production de biomasse et de l'activité photosynthétique, induisant un retard de croissance, une chute de production et à des dommages sur le plan morphologique externe (Sharma et Dubey, 2005 ; Brunet et al., 2009 ; Piotrowska et al., 2009 ; Sing et al., 2010).

Les différents essais menés pour la réalisation du présent travail, consistent en l'estimation des effets procurés par le plomb sur le comportement physiologique de deux variétés de la fève à différents stades de développement.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Préparation du substrat

Le substrat est un sol remanié soigneusement préparé à base de mélange constitué de sable, de sol et de terreau à proportion de (8-3-1). Le sol est prélevé de la ferme de l'université de Tiaret sur une parcelle en jachère depuis plusieurs années. Il a été prélevé à une profondeur de 30 cm afin d'éviter toute contamination possible en plomb d'origine atmosphérique, le sol séché à l'air libre est tamisé. Nous avons ajouté du sable lavé à plusieurs reprises (plus de trois fois) à l'eau, séché à l'air libre et tamisé par un tamis de 2 mm, et du terreau pour apporter au substrat suffisamment de forme. Le substrat est mis dans des cylindres en PVC de diamètre de 110 mm et de 900 mm de hauteur. Chaque cylindre est bouché en son extrémité par un tissu filtre de 1 mm pour le diamètre des pores et attaché par un ruban adhésif. Un échantillon du sol est analysé pour déterminer ces propriétés physico-chimiques (Tableau 1). Ces analyses ont été réalisées au laboratoire régional de l'institut national des sols et de l'irrigation et de drainage (I.N.S.I.D) de la station Ksar Chellala de Tiaret.

Tableau 1. Propriété physico-chimique du substrat utilisé.

Granulométrie (Pipette De Robinson)	
- $\varnothing < 2\mu\text{m}$	05.26
- $2\mu\text{m} < \varnothing < 20\mu\text{m}$	07.89
- $20\mu\text{m} < \varnothing < 50\mu\text{m}$	44.18
- $50\mu\text{m} < \varnothing < 200\mu\text{m}$	17.52
- $200\mu\text{m} < \varnothing < 2\text{mm}$	25.15
pH (AFNOR X31-103 Sol/Eau : 2/5)	07.67
Conductivité Electrique (Ms/Cm) (Iso : 11265 Sol/Eau : 1/10)	00.416
Matière Organique (%) (Méthode De Walkley)	00.13
Azote Total (%) (Kjeldahl Iso : 11261)	00.18
Phosphore Assimilable (ppm) Joret Hébert AFNOR : X31-161N.D	
Calcaire Total (%) Calcimètre De Bernard Iso : 10693	04.41
Calcaire Actif (%) 00.75	
CEC En Meq/100g De Sol	10
U.S.D.A Texture :	Silt Loam (limon fin)

2.2. Matériel végétal

Les graines de *Vicia faba* L. des deux variétés Sidi Aïch (V1) et Super Aguadulce (V2) sont soigneusement fournies par l'institut technique des grandes cultures (I.T.G.C) de Sidi-Bel-Abbès. Ces graines sont rincées à l'eau puis plongées pendant quinze minutes dans une solution d'hypochlorite de sodium à 6 % pour éliminer toute contamination fongique possible. Après plusieurs rinçages à l'eau pour éliminer les restes d'hypochlorites de sodium, les graines ont été mises à germer dans des boîtes en plastiques, sur papier absorbant compacté, imbibé d'eau et surélevé par des plaques de polystyrène de 1,5 cm. Les boîtes de germinations sont ensuite placées dans une armoire, à l'obscurité, à température ambiante et avec un taux d'humidité très élevé pendant trois à quatre jours.

2.3. Conduite de la culture

Les jeunes plants, après germination de quatre jours, ont été plantées sur un dispositif composé de trois niveaux avec dix répétitions pour chaque niveau (pour les deux variétés le dispositif est placé sous serre semi contrôlée). L'irrigation est effectuée cycliquement afin de maintenir le sol à la capacité au champ. Pour cela, la fréquence d'irrigation a été de trois jours pour la période humide et quotidiennement pour les périodes chaudes. La solution nutritive est apportée une fois toutes les trois irrigations. Les plantes sont conservées sous serre jusqu'à la fin de l'expérimentation pour une durée de 60 jours (figure 1).



Figure 1. Dispositif expérimental (à droite la variété Sidi Aïch et à gauche la variété Super Aguadulce).

2.4. Apport du plomb

Une seule application a été réalisée à $t=25$ jours après le repiquage des graines. Cette application comporte deux doses (niveau de traitement) 500 ppm (D.2), et 1000 ppm (D.3) avec une dose témoin (D.1). Le plomb est apporté sous forme de nitrates de plomb $Pb(NO_3)_2$. Un mois après, nous détersons les plants de chaque niveau de traitement pour faire l'objet d'une série d'analyse.

2.5. Les paramètres mesurés

2.5.1. Dosage des pigments chlorophylliens

Les concentrations des chlorophylles et les caroténoïdes sont déterminées par spectrométrie selon la procédure citée par Lichtenthaler (1987).

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

- Chlr.a = $12,25 \times A663 - 2,79 \times A645$
- Chlr.b = $21,50 \times A645 - 5,10 \times A663$
- Chlr.a+b = $7,50 \times A663 + 18,71 \times A645$

2.5.2. Dosage des sucres solubles

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

2.5.3. Taux de protéines totales des graines (PRT)

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

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

2.5.4. Dosage de la proline

La méthode suivie est celle de Troll et Lindsley (1955), simplifiée et mise au point par Dreir et Goring (1974).

2.6. Analyses statistiques

Les résultats sont présentés en moyennes \pm écart type et ils sont réalisés par stat box version 6.40 afin de ressortir l'analyse de variance à deux facteurs en randomisation. L'effet étant significatif lorsque $p < 0.05$.

3. RESULTAS

3.1. Teneur en pigments photosynthétiques

Pour les valeurs du taux de la chlorophylle A [Tableau 3] on signale une diminution en fonction de la dose du plomb pour la variété V2 à partir de D.3, avec 6.86 (mg/g) pour le témoin, 6.81 (mg/g) pour D.2 et 3.97 (mg/g) pour D.3. De même pour V1, la diminution des valeurs de la chlorophylle A n'est enregistrée qu'à partir de D.3 (7.65 mg/g) et une légère augmentation 10.30 (mg/g) pour D.2 contre 9.72 (mg/g) pour le témoin. De plus, on remarque que les valeurs enregistrées pour V1 sont plus importantes que celles enregistrées pour V2. L'analyse de variance (Tableau 2) montre un effet très hautement significatif du facteur variété sur le taux de la chlorophylle A ($p < 0.001$) de même pour le facteur dose de plomb.

Tableau 2. Analyse de la variance des paramètres physiologiques

Variables	Dose dePb (F1)	Variété (F2)	Interaction(F1xF2)
Chloro a	0*	0.001*	0.837ns
Chloro b	0.403ns	0.754ns	0.917ns
Chloroa+b	0*	0*	0.463ns
Protéines totales	0*	0*	0*
Proline	0.031*	0.016*	0.628ns
Sucres Solubles	0.631ns	0.014*	0.472ns

Ns : non significatif ; * : significatif.

Pour les taux de la chlorophylle B (Tableau 3), nous constatons une diminution progressive pour V2 en fonction de la dose du plomb, 1.53 (mg/g) pour D.1, 1.13 (mg/g) pour D.2 et 0.83 (mg/g) D.3. Pour V1, nous avons enregistré une légère augmentation de la chlorophylle B pour D.2 1.98 (mg/g) contre 1.75 (mg/g) pour le témoin et 1.36 (mg/g) pour D.3. La variété V1 enregistre des valeurs supérieures à celles de V2. L'analyse de variance montre que l'effet est non significatif pour le facteur variétal, le facteur dose de plomb appliquée et de même pour l'interaction entre facteur variété et facteur dose de plomb.

Tableau 3. Taux de la chlorophylle B en fonction de la dose de Pb pour V1 et V2.

Variété	Dose de Pb (ppm)	Chlr A (mg/g)	Chlr B (mg/g)	Chlr A+B(mg/g)
V1	0	9.72 ±3.59	1.75 ± 2.68	11.47 ± 1.93
	500	10.30 ±1.66	1.98 ± 2.27	12.28 ± 1.84
	1000	7.65 ±1.81	1.36 ± 3.27	9.01 ± 2.64
V2	0	6.86 ±2.79	1.53 ± 2.58	8.39 ± 1.28
	500	6.81 ±0.92	1.13 ± 1.69	7.94 ± 1.28
	1000	3.97 ±1.91	0.83 ±1.64	4.80 ± 1.08

Les taux de chlorophylle A+B suit dans une grande partie celle de la chlorophylle A, ces valeurs (Tableau 3) présentent pour V1 une augmentation pour D.2 de 12.28 (mg/g) contre 11.47 (mg/g) pour D.1, puis elles retombent à 9.01 (mg/g) pour D.3. Pour V2 les valeurs enregistrent une diminution en fonction de la dose qui est très importante pour D.3 de l'ordre 4.80 (mg/g) contre 8.39 (mg/g) pour D.1 et 7.94 (mg/g) pour D.2. On signale également que V2 enregistre des taux inférieurs à ceux enregistrés pour V1. L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif ($p < 0.005$) du facteur variété ainsi que pour le facteur dose de plomb.

3.2. Taux des sucres solubles

Pour les teneurs des sucres solubles, les résultats montrent une augmentation en fonction de la dose pour les deux variétés, à savoir 72.86 ($\mu\text{g/g}$) contre 83.62 ($\mu\text{g/g}$) pour D.1, 117.81 ($\mu\text{g/g}$) contre 99.62 ($\mu\text{g/g}$) pour D.2 et enfin, 131.71 ($\mu\text{g/g}$) contre 163.14 ($\mu\text{g/g}$) pour D.3. Les variations en fonction de la variété ne sont pas visibles du fait que les valeurs restent rapprochées (Figure 2). V2 enregistre la plus grande valeur pour la dose D.3 avec 163.14 ($\mu\text{g/g}$) de moyenne.

L'analyse de la variance montre un effet significatif du facteur dose de plomb sur la teneur en sucre avec une probabilité $p < 0.05$ (Tableau 2).

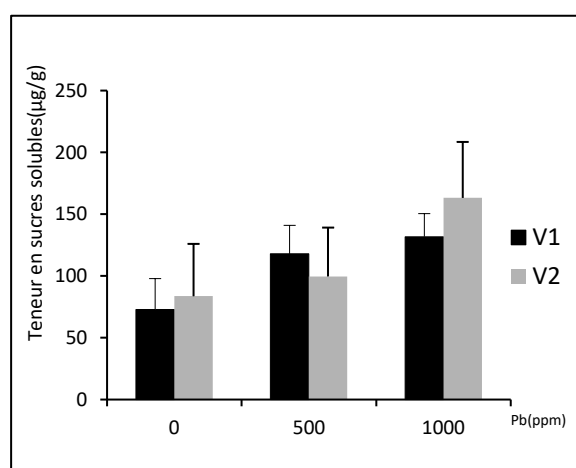


Figure 2. L'évolution de la teneur en sucres solubles fonction de la dose de plomb pour V1 ; Sidi Aïch et V2 ;

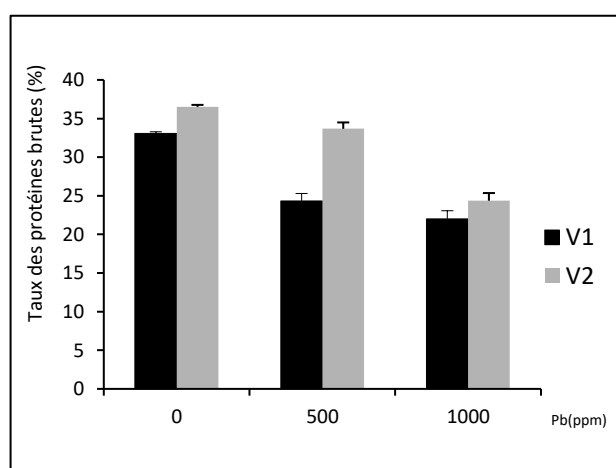


Figure 3. L'évolution du taux des protéines totales de plomb pour V1 ; Sidi Aïch et V2 ; Super Aguadulce

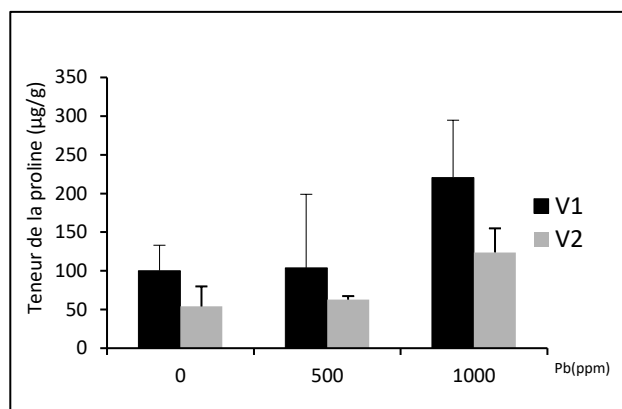


Figure 4. L'évolution de la teneur en proline en fonction de la dose de plomb pour V1 ; Sidi Aïch et V2 ; Super

3.3. Taux des protéines totales

Les valeurs enregistrées pour le taux des protéines totales inscrivent une diminution pour V1. Elles passent de 33.06 % pour le témoin à 24.33 % pour D.2, et arrivent pour D.3 à 22.02 %. Cette diminution affecte également les valeurs enregistrées pour la V2 qui enregistre 36.51 % de moyenne pour D.1, puis 33.67 % pour D.2 et 24.37 % pour D.3 (Figure 3). Nous remarquons également que V2 enregistre des valeurs de protéines brutes supérieures à celles enregistrées pour V1. L'analyse de variance montre que (i) le facteur variété a un effet très hautement significatif ($p < 0.005$), (ii) le facteur dose de plomb avec un effet très hautement significatif ($p < 0.005$) et (iii) un effet très hautement significatif ($p < 0.005$) pour l'interaction entre les deux facteurs (F1xF2).

3.4. Teneur en proline

Les résultats du dosage de la proline montrent une augmentation en fonction de la dose pour les deux variétés avec 220.49 (D.3), 103.70 (D.2) et 100.12 ($\mu\text{g/g}$) pour D.1 (pour V1) et, 123.83 (D.3), 62.72 (D.2) et 53.95 ($\mu\text{g/g}$) pour D.1 (pour V2). (Figure 4). L'analyse de la variance montre un effet significatif du facteur variété avec un seuil de probabilité $p < 0.05$. De même pour le facteur dose de plomb avec un effet significatif ($p < 0.05$).

4. DISCUSSIONS

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

Les résultats obtenus montrent une régression significative en fonction de la dose de plomb présente dans le milieu. Les travaux de Jiang Wang *et al.* (2010) montrent que le plomb peut diminuer le taux de la chlorophylle, mais cette diminution reste faible contrairement à la diminution observée en présence de Zn et Cu. De même, les résultats ont montré également une diminution des taux de pigments. Cette diminution semble être très significative pour la chlorophylle a et la chlorophylle a+b (la diminution de la chlorophylle a+b est le résultat de la diminution de la chlorophylle a).

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

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

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

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

Les sucres solubles peuvent jouer un rôle dans la protection des chlorophylles et des caroténoïdes contre l'agressivité du stress métallique (Azouz et al., 2011). Verma et Dubey (2001) informent que cette accumulation est due à une adaptation très possible de la plante pour ajuster et maintenir un potentiel osmotique favorable. Ces hypothèses expliquent les résultats obtenus dans cette étude et qui démontrent que l'application du plomb s'accompagne d'une nette accumulation des sucres solubles. Cette accumulation reste toutefois conditionnée par la dose du plomb et la période de son application.

En présence de forte concentration en plomb, le pool protéique peut fortement diminuer (Jana et Choudhuri, 1982 ; Mohan et Hosetti, 1997 ; Saxena et al., 2003; Mishra et al., 2006; Garcia et al., 2006 ; Piotrowska et al., 2009). Les résultats de la présente étude ont montré une diminution du taux des protéines brutes en fonction de la dose de plomb ajoutée (effet très hautement significatif). La variété Super Aguadulce enregistre des valeurs de protéines largement supérieures à celles enregistrées par Sidi Aïch, due probablement à un critère variétal.

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

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

Les résultats relevés dans cette étude, montrent une augmentation relative des teneurs de la proline en fonction de l'accroissement des doses de plomb appliquées dans le substrat. L'accumulation de la proline a été enregistrée en présence de fortes doses de plomb (Qureshi et al., 2007 ; John, et al., 2008 ; Hedaya, 2008) appliquées sur des plantes de la fève, ou sur d'autres espèces (Jiang Wang et al., 2010 ; Azooz et al., 2011).

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

5. CONCLUSION

La présente étude a montré des perturbations notables sur le plan physiologique de la fève. Elle a démontré d'une part, une diminution des paramètres de la biosynthèse (activité photosynthétique et taux des protéines totales) en fonction de l'intensité du plomb appliquée dans le substrat. D'autre part, elle a démontré une augmentation des osmo-régulateurs (prolines et sucres solubles) qui sont accumulés, suite, à la présence du plomb dans le milieu.

La présence du plomb dans le milieu a induit à des sévères modifications comportementales sur le plan physiologique de la fève.

6. REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel de l'Institut technique des grandes cultures (I.T.G.C) de Sidi-Bel-Abbès ainsi que celui de l'Institut National des Sols et de l'Irrigation et de Drainage (I.N.S.I.D) de la station Ksar Chellala de Tiaret.

7. REFERENCES

- Aydinalp C et Marinova S, 2009. The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*). Bulgarian Journal of Agricultural Science, 15 (4): 347-350.
- Azooz MM; Youssef MM; Al-Omair MA, 2011. Comparative evaluation of zinc and lead and their synergistic effects on growth and some physiological responses of Hassawi Okra (*Hibiscus esculentus*) seedlings. American journal of plant physiology 6 (6): 269-282.
- Beltagi M S, 2005. Phytotoxicity of lead (Pb) to SDS-PAGE Protein Profile in Root Nodules of Faba Bean (*ViciaFabaL.*) plants. Pakistan Journal of Biological Sciences 8(5) : 687-690.
- Bhushan B et Gupta K, 2008. Effect of lead on carbohydrate mobilization in oat seeds during germination. J. Appl. Sci. Environ. Manage. Vol. 12(2): 29-33.
- Brunet J ; Repellin A ; Varrault G ; Terryn N ; Zuily-Fodil Y, 2008. Lead accumulation in the roots of grass pea (*Lathyrussativus L.*): a novel plant for phytoremediation systems? Plant biology and pathology/Biologieetpathologievégétales. C.R. Biologies 331: 859-864.
- Cenkci S; Cigerci IH; Yildiz M; Özay C; Bozdog A; Terzi H, 2010. Pb contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassicarapa L.* Environ Exp Bot 67(3):467-473.
- Chatterjee C; Dube BK; Sinha P; Srivastava P, 2004. Detrimental effects of Pbphytotoxicity on growth, yield, and metabolism of rice. Comm Soil Sci Plant An 35(1-2):255-265.
- Dreier W ; Göring M, 1974. Der einflusshohersalzkoncentration auf verschiedenphysiologischesparameter von maiswurzeln. Win Z. der HU Berlin, Nath. Naturwiss. R., 23 : 641-644.
- Dumat C; Quenea K; Bermond A; Toïnen S; Benedetti MF, 2006. A study of the trace metal ion influence on the turn-over of soil organic matter in various cultivated contaminated soils. Environmental Pollution, 142: 521-529.

- Farooqi ZR; ZafarIqbal M; Kabir M; Shafiq M, 2009. Toxic effects of lead and cadmium on germination and seedling growth of Albizialebeck L. Benth. Pak. J. Bot., 41(1): 27-33.
- Gajić G; Mitrović M; Pavlović P; Stevanović B ; Djurdjević L ; Kostić O, 2009. An assessment of the tolerance of *Ligustrum ovalifolium* Hassk. to traffic-generated Pb using physiological and biochemical markers. Ecotoxicology and Environmental Safety 72 : 1090-1101.
- Garcia JS; Gratao PL; Azevedo RA; Arruda MAZ, 2006. Metal Contamination Effects on Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Growth and Protein Expression in Leaves During Development. Journal of Agriculture and Food Chemistry 54(22): 8623-8630.
- Gopal R; Rizvi AH, 2008. Excess Pb alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish. Chemosphere 70(9):1539-1544.
- Govindjee DW, 1976. Effects of lead ions on photosystem I in isolated chloroplasts: studies on the reaction center P700. Photosynthetica 10(3), 241.
- Hedaya A K, 2008. Lead Accumulation and its Effect on Photosynthesis and Free Amino Acids in *Vicia faba* Grown Hydroponically. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2(3): 438-446.
- HeidariMetSarani S, 2011. Effects of lead and cadmium on seed germination, seedling growth and antioxidant enzymes activities of mustard (*Sinapis arvensis* L.). ARPN Journal of Agricultural and Biological Science. Vol. 6, no. 1: 44-47.
- Hu J ; Shi G ; Xu Q ; Wang X ; Yuan Q ; Du K, 2007. Effects of Pb²⁺ on the active oxygen-scavenging enzyme activities and ultrastructure in *Potamogeton crispus* leaves. Russian Journal of Plant Physiology 54(3): 414-419.
- Huang G; Bazzaz FA; Vanderhoef LN, 1974. The inhibition soybean metabolism by cadmium and lead. Plant Physiol. 54, 122-124.
- Islam E; Liu D; Li T; Yang X; Jin X; Mahmood Q; Tian S ; Li J, 2008. Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. Journal of Hazardous Materials 154: 914–926.
- Jana S ; M Choudhuri, 1982. Senescence in submerged aquatic angiosperms: effects of heavy metals. New Phytologist 90(3): 477-484.
- Jiang W; Liu D, 2010. Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L. BMC Plant Biol. 10:40-40.
- John R; Ahmad P; Gadgil K; Sharma S, 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. . Plant Soil Environ., 54 (6): 262-270.
- Johnson FM, 1998. The genetic effects of environmental lead. Mutation Research 410: 123-140.
- Kjeldahl J, 1883. A new method for the determination of nitrogen in organic matter. Zeitschrift für Analytische Chemie. 22: 366-382.
- Lichtenthaler H K, 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. Methods Enzymology, 148: 350–381.
- Liu D; Li T; Jin X; Yang X; Islam E; Mahmood Q, 2008. Pb induced changes in the growth and antioxidant metabolism of the Pb accumulating and non-accumulating ecotypes of *Sedum alfredii*. J Integr Plant Biol, 50(2):129-140.
- Mathieu C et Pieltan F, 2003. Analyse chimique des sols- Méthodes choisies. Ed Tec &Doc, Lavoisier, Paris, pp.351-376.
- Mishra S; Srivastava S; Tripathi RD; Kumar R; Seth CS CS; Gupta DK, 2006b. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatin and antioxidant system in response to its accumulation. Chemosphere 65(6): 1027-1039.
- Mohan BS ; Hosetti BB, 1997. Potential phytotoxicity of lead and cadmium to *lemna minor* grown in sewage stabilization ponds. Environmental Pollution 98(2): 233-238.

- Murkowski A ; Skórska E, 2008. Comparison of phytotoxicity of lead and tin organic compounds by means of luminescence methods. *ActaAgrophysica*, 2008, 11(1) : 131-140.
- Piotrowska A ; Bajguz A ; Godlewska-Zylkiewicz B ; Czerpak R ; Kaminska M, 2009. Jasmonic acid as modulator of Pb toxicity in aquatic plant *Wolffiaarrhiza* (Lemnaceae). *Environ Exp Bot* 66(3):507-513.
- Pourrut B, 2008. Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse, 284p.
- Qureshi M ; Abdin M ; Qadir S; Iqbal M, 2007. Lead-induced oxidative stress and metabolic alterations in *Cassia angustifolia*Vahl. *BiologiaPlantarum* 51(1): 121-128.
- Ruley AT ; Sharma NC ; Sahi SV ; Singh SR ; Sajwan KS, 2006. Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbaniadrummondii* grown in soil. *Environnement Pollution* 144: 11-18.
- Saxena A; Saxena DK; Srivastava HS, 2003. The Influence of Glutathione on Physiological Effects of Lead and its Accumulation in Moss *Sphagnum squarrosum*. *Water, Air, & Soil Pollution* 143(1): 351-361.
- Shafiq M; Zafar IM; Athar M, 2008. Effect of lead and cadmium on germination and seedling growth of *Leucaenaleucocephala*. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* Vol. 12(2): 61-66.
- Shahid M, 2010. Induction de la phytotoxicité du Plomb chez *Vicia faba* L. : rôles de l'absorption et de la spéciation. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse, p300.
- Sharma P; Dubey RS, 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17 (1): 35-52.
- Shields R; Burnett W, 1960. Determination of protein bound carbohydrate in serum by a just modified anthrone method. *Anal. Chem.*, 32: 885-886.
- Singh R; Tripathi RD; Dwivedi S; Kumar A; Trivedi PK; Chakrabarty D, 2010. Pb bioaccumulation potential of an aquatic macrophyte *Najasindica* are related to antioxidant system. *BioresourTechnol* 101:3025-3032.
- Soheir ES; Khalil MY; Naguib NY, 2002. Investigation of the effect of some elements (B, Mo, Co, Pb) on growth, productivity and quality of *Cymbopogoncitratatus* L. *Ann. Agric. Sci.* 47(3), 911.
- Tremel-Schaub A et Feix I, 2005. Contamination des sols Transferts des sols vers les plantes. EDP Sciences, ADEME Éditions, p 413.
- Troll W etLindsley J, 1955. A photometric method for the determination of proline; *J. Biochem*: 655-660.
- Verma S; Dubey RS, 2001. Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biol. Planta.* 44: 117-123.
- Wang J; Li W; Zhang C; Ke s, 2011. Physiological responses and detoxific mechanisms to Pb, Zn, Cu and Cd in young seedlings of *Paulownia fortunei*. *Journal of Environmental Sciences*, 22(12) 1916-1922.
- Xiong Z ; Zhao J; Li M, 2006. Lead toxicity in *Brassica pekinensis*Rupr.: Effect on nitrate assimilation and growth." *Environmental Toxicology* 21(2): 147-153.