

Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Effets d'un stress imposé par le chrome sur
les premiers stades de croissance
de *Phaseolus vulgaris* L.**

Présenté par :

Allaoua Siham & Boudjaoui Meriem

Soutenu le : **Juin 2019**

Devant le jury composé de :

Mme <i>Benhamiche S.</i>	MCB	Président
Mr <i>Benadjaoud A.</i>	MCB	Encadreur
Mr <i>Hamlat M.</i>	MAA	Examineur

Année universitaire : 2018 / 2019

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la patience pour réaliser ce modeste travail.

Nous voudrions présenter nos remerciements à notre encadreur 'Mr Benadjaoud Ali', qui nous a permis de bénéficier de son encadrement. Nous voudrions également lui témoigner notre gratitude pour sa patience et son soutien qui nous a été précieux afin de mener notre travail à bon port.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury : Mme Benhamiche S. et Mr Hamlat M. pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous tenons aussi à remercier tous les techniciens du laboratoire pour nous avoir accordé leur confiance et leur accueil au sein de laboratoire.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Je dédie ce modeste travail :

En premier, a mon père que dieu le béni, malgré son absence, son esprit m'a toujours accompagné et guidé dans tous ce qui j'ai vécu

A ceux qui me sont les plus chers, ma mère et ma grande –mère pour leurs patiences et leurs bienveillances.

A mes chers frères :Zinedine, Fayez.

A mes adorables sœurs :Liza, Souhila et son mari Fahem

A l'homme de ma vie Lyes ,pour son soutien tout au long de mon cycle d'étude

A tous mes cousins et leurs femmes

A ceux qui m'aiment et ce qui j'aime, particulièrement ma Famille

A tous mes oncles, voisins(es) et toutes mes amies.

Meriem.

Dédicaces

Âmes chers parents : Nadia et Said

Â qui je dois ce que je suis

Tous mes sentiments de respect, d'amour, de gratitude et de reconnaissance pour tous les sacrifices déployés pour m'élever dignement et assurer mon éducation dans les meilleures conditions Je serai reconnaissante toute ma vie, qu'Allah vous accorde longue vie dans la santé !

Â mon frangin Samir et mes sœurs Mounia et Nassou.

En souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les meilleurs et les plus agréables moments. Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent

Â ma sœur Souhila et son mari Nourdine

Je vous dédie ce travail et je vous remercie pour l'estime et l'affection que vous m'avez accordée

Â mes oncles : Yahia, Hocine et Saadi, ainsi que leurs femmes et leurs enfants.

Âmes tantes : Saliha ,Zoulikha et Zineb

Â la mémoire de ma grand-mère et grand- père paternelle Âziza et Âkli.

Âmon amour Elhendi D.et ma belle Lydia

Trouvez ici le témoignage d'une fidélité et amitié infinie.

N°	Titre	Page
1	Caractéristiques physico-chimiques du chrome	03
2	Classification phylogénétique du haricot selon l'APG	05
3	Identification et quelques propriétés chimiques et biochimiques de la proline	12
4	Pourcentages de réduction de la teneur en eau moyenne des deux premières feuilles des lots témoins vis-à-vis des teneurs en eau moyennes des deux premières feuilles des lots traités par différentes concentrations [300, 600, 900 et 1200 ppm] en $K_2Cr_2O_7$, puis des lots traités entre eux. Ces pourcentages de réduction ont été déterminés à la 24 ^{ème} heure des expérimentations.	27
5	Pourcentages de réduction de la teneur relative en eau moyenne déterminés à différents temps du traitement par la concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ vis-à-vis du temps référentiel $t = 0$ h, puis entre eux.	30
6	Pourcentages d'élévation ou de réduction de la quantité en proline déterminée chez les plants témoins et chez les plants traités par une concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction de différentes amplitudes de temps (0 h – 1 h ; 1 h – 3 h ; 3 h – 6 h et 6 h – 24 h).	34

N°	Titre	Page
01	Origine des métaux lourds.	02
02	Tableau périodique et positionnement du chrome.	03
03	Aspect général de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. avec ses racines (a) et son port chez une variété dite à rames (b).	06
04	Feuilles (a) et fleurs (b) de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	06
05	Aperçu sur les gousses (a) et différents types de graines de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. (b).	07
06	Molécule d'eau (a) et ses différents états : vapeur, liquide et solide (b).	08
07	Absorption et voies de circulation de l'eau au niveau des racines.	10
08	Continuum sol – plante - atmosphère.	11
09	Représentation de la structure chimique de L ou S(-)-proline (a) et de D ou R(+)-proline (b).	12
10	Les deux voies de biosynthèse de la proline : voie principale impliquant le glutamate et la seconde voie via l'ornithine.	13
11	Catabolisme de la proline en acide glutamique dans l'espace mitochondrial.	14
12	Multiplés rôles de la proline accumulée en situation de stress chez les plantes.	15
13	Graines de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. <i>El-Djadida</i>	16
14	Mise à germination (a) et percée radiculaire (b) des graines de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. <i>El-Djadida</i> .	17
15	Fiche technique du dichromate de potassium (K ₂ Cr ₂ O ₇).	18
16	Plants de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. <i>El-Djadida</i> en conditions de culture hydroponique	19
17	Courbe étalon de la proline (densité optique lue à $\lambda = 515$ nm).	21
18	Evolution de la teneur en eau des deux premières feuilles des plants de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. <i>El-Djadida</i> témoins et traités par une concentration de [300 ppm] en K ₂ Cr ₂ O ₇ en fonction du temps \pm intervalle de confiance	22

N°	Titre	Page
19	Evolution de la teneur en eau des deux premières feuilles des plants de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. <i>El-Djadida</i> témoins et traités par une concentration de [600 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps \pm intervalle de confiance	23
20	Evolution de la teneur en eau des deux premières feuilles des plants de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. <i>El-Djadida</i> témoins et traités par une concentration de [900 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps \pm intervalle de confiance	24
21	Evolution de la teneur en eau des deux premières feuilles des plants de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. <i>El-Djadida</i> témoins et traités par une concentration de [1200 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps \pm intervalle de confiance	25
22	Evolution de la teneur en eau des deux premières feuilles des plants de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. <i>El-Djadida</i> témoins et traités par différentes concentrations [300, 600, 900 et 1200 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps \pm intervalle de confiance	26
23	Evolution de la teneur relative en eau des deux premières feuilles des plants de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. <i>El-Djadida</i> témoins et traités par une concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps \pm intervalle de confiance	28
24	Evolution de la quantité en proline des deux premières feuilles des plants de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. <i>El-Djadida</i> témoins et traités par une concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps \pm intervalle de confiance	32

Abréviations

[]	Concentration
%	Pourcentage
°C	Degré Celsius
λ	Longueur d'onde
APG	<i>Angiosperm Phylogeny Group</i> ou Classification phylogénétique
ATP	Adénosine triphosphate
Cr	Chrome
Cr III	Chrome trivalent
Cr VI	Chrome hexavalent
etc.	Et cetera
ETM	Eléments traces métalliques
Fig.	Figure
h	Heure
IC	Intervalle de confiance
K₂Cr₂O₇	Dichromate de potassium
Na₂SO₄	Sulfate de sodium
NADP⁺	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (forme oxydée)
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (forme réduite)
PF	Poids frais
ppm	Partie par million
PS	Poids sec
PT	Poids à la turgescence
ROS	Espèces réactives d'oxygène
t	Temps
Tab.	Tableau
TRE	Teneur relative en eau
UICPA	Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée
v/v	Volume
var.	Variété

I. Introduction	01
II. Analyse Bibliographique	02
II.1. Métaux lourds	02
II.1.1. Définition et origine	02
II.1.2. Chrome	02
II.1.2.1. Propriétés du chrome	03
II.1.2.2. Toxicité du chrome	04
II.2. Généralités sur le haricot <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	05
II.2.1. Origine et répartition géographique	05
II.2.2. Position systématique	05
II.2.3. Description botanique	05
II.2.4. Exigences de l'espèce	07
II.2.5. Importance de la culture	07
II.3. L'eau	08
II.3.1. L'eau dans la plante	08
II.3.2. Mouvement de l'eau dans la plante	08
II.3.2.1. L'eau dans le sol	08
II.3.2.2. Absorption de l'eau par les racines	09
II.3.2.3. Mesure de l'absorption de l'eau par les racines	09
II.3.2.4. Facteurs contrôlant l'absorption de l'eau par les racines	09
II.3.3. Transit de l'eau dans la plante	09
II.3.3.1. Au niveau des racines	09
II.3.3.2. Au niveau du xylème	10
II.3.4. L'émission d'eau dans l'atmosphère par évapotranspiration	10
II.3.5. Rôles de l'eau dans la plante	11
II.4. Proline	12
II.4.1. Définition	12
II.4.2. Biosynthèse de la proline	13
II.4.2.1. Biosynthèse de la proline via le glutamate	13

II.4.2.2. Biosynthèse de la proline via l'ornithine	13
II.4.3. Catabolisme de la proline	14
II.4.4. Facteurs favorisant l'accumulation de la proline	14
II.4.5. Rôles de la proline	14
III. Matériel & Méthodes	16
III.1. Matériel végétal et application du stress	16
III.1.1. Origine des graines	16
III.1.2. Préparation des graines pour la germination	16
III.1.2.1. Imbibition des graines	16
III.1.2.2. Germination des graines	16
III.1.3. Culture des plants de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	17
III.1.3.1. Substrat de culture	17
III.1.3.2. Conditions de culture	17
III.1.4. Préparation de la solution du dichromate de potassium	17
III.1.4.1. Dichromate de potassium	17
III.1.4.2. Préparation de la solution du dichromate de potassium	18
III.1.5. Application du stress	18
III.2. Méthodes utilisées	19
III.2.1. Teneur en eau des feuilles	19
III.2.2. Teneur relative en eau des feuilles	19
III.2.3. Extraction et dosage de la proline	20
III.2.3.1. Extraction	20
III.2.3.2. Dosage	20
III.2.4. Analyse statistique	20
IV. Résultats & Discussion	22
IV.1. Teneur en eau des plants de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var. <i>El-Djadida</i>	22
IV.1.1. Teneur en eau des plants traités par une [300 ppm] en K ₂ Cr ₂ O ₇	22
IV.1.2. Teneur en eau des plants traités par une [600 ppm] en K ₂ Cr ₂ O ₇	23
IV.1.3. Teneur en eau des plants traités par une [900 ppm] en K ₂ Cr ₂ O ₇	24

IV.1.4. Teneur en eau des plants traités par une [1200 ppm] en $K_2Cr_2O_7$	25
IV.1.5. Synthèse globale sur les teneurs en eau des plants traités par du $K_2Cr_2O_7$	26
IV.2. Teneur relative en eau des plants de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	28
IV.3. Quantité en proline des plants de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	32
V. Conclusion	36
VI. Références Bibliographiques	39

I. Introduction

Les activités humaines, agricoles, urbaines et industrielles sans cesse croissantes, sont à l'origine d'une contamination de notre environnement par les métaux lourds. Les végétaux comme constituants essentiels des écosystèmes et naturellement à la base des chaînes alimentaires, sont considérés comme les premiers à véhiculer ces éléments, au reste des organismes vivants (**Zorrig, 2011 ; Biteur, 2012**).

Parmi ces contaminants, le chrome est devenu un des problèmes majeurs pour non seulement l'environnement, mais aussi pour les différents règnes du vivant, notamment sous sa forme de chrome hexavalent, hautement toxique et nuisible à la santé et qui affecte sensiblement les rendements agricoles (**Gasté et al. 2005 ; Thevenot et al. 2009**).

Le groupe des légumineuses est le groupe botanique le plus diversifié, d'un très grand intérêt agroéconomique à l'échelle du monde entier ; il n'y échappe pas aux contraintes venant de l'environnement ou d'ordre biotique (**Doyle & Luckow, 2003**). A ce titre, *Phaseolus vulgaris* L. très cultivée, n'est pas à l'abri de différentes menaces. C'est une plante qui supporte mal les températures excessives, la sécheresse et la salinité des sols (**Maougal, 2014 ; Djouadi & Hallalib, 2018**).

A l'échelle des éléments traces métalliques, certains éléments tel que le cuivre et le zinc, sont très importants pour les organismes vivants mais en petites quantités ; ils sont toxiques lorsqu'ils sont absorbés à fortes doses. D'autres éléments, comme le cadmium, le chrome et le plomb, ne sont pas essentiels et sont considérés toxiques (**Mokrani, 2014**).

Dans cette perspective, nous avons choisi une espèce de légumineuse, très commercialisée dans nos régions, *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida*. Sur cette espèce, que nous avons fait pousser normalement au laboratoire, nous avons expérimentés après l'apparition des deux premières feuilles en conditions cette fois-ci de culture hydroponique, les effets d'un des éléments traces métallique ; le chrome que nous avons utilisé sous forme de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$).

Les paramètres considérés dans notre étude sont les variations au cours du temps (1, 3, 6 et 24 heures) : **(1)** de la teneur en eau, **(2)** de la teneur relative en eau et **(3)** de la quantité en proline des feuilles. Le suivi de ces 3 paramètres, pourrait rendre au mieux la relation entre l'évolution du statut hydrique foliaire et les fonctions de l'ajustement osmotique par l'un des solutés compatibles les plus connus, la proline.

II.1. Métaux lourds

II.1.1. Définition et origine

Les métaux lourds englobent tous les éléments métalliques ayant une masse volumique supérieure à 5 g/cm^3 (Nies, 1999). Certains, comme le cuivre et le zinc, sont essentiels en petite quantité à la croissance des organismes vivants, mais deviennent toxiques lorsqu'ils sont excessivement absorbés. D'autres métaux, tel que le cadmium, le chrome et le plomb, sont rarement essentiels et sont considérés comme toxiques (Mokrani, 2014).

Les métaux lourds peuvent provenir de deux principales voies : des voies naturelles et des voies anthropiques (Fig. 1).

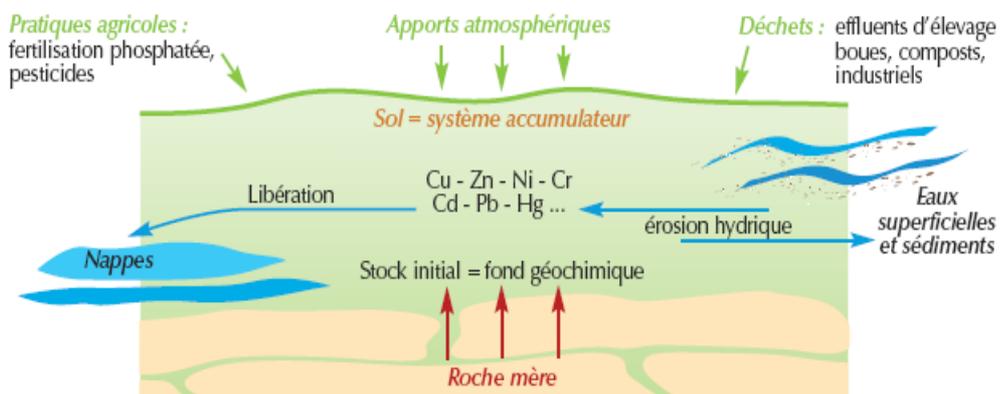


Figure 1 : Origine des métaux lourds. Les métaux lourds proviennent des voies naturelles par altérations de la roche mère du sous-sol formant le fond géochimique. Ils proviennent aussi des voies anthropiques suite aux pratiques agricoles, apports atmosphériques et les déchets de différentes origines (docplayer.fr/50429575-Etude-du-pouvoir-auto-epurateur-de-quelques-plantes-la-phytoremediation.html).

II.1.2. Chrome

Parmi les métaux lourds, figure le chrome objet de notre étude (Fig. 2). Son nom vient du grec *Khroma* signifiant couleur. Il est le 21^{ème} élément le plus abondant de la croûte terrestre et le 6^{ème} métal de transition le plus abondant (Mohan & Pittman, 2006). Il a été découvert par le chimiste français Nicolas Louis Vauquelin en 1797 dans un minerai de plomb rouge de Sibérie. Il fut utilisé dans les procédés de coloration du textile, le tannage des cuirs, comme réfractaire dans le revêtement des fours et en métallurgie (Chiffolleau, 1994).

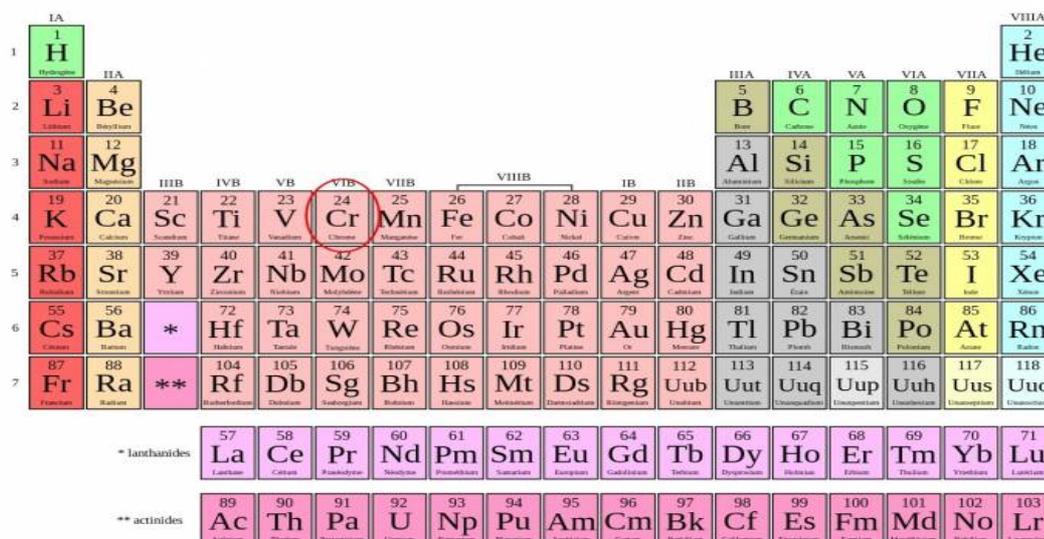


Figure 2 : Tableau périodique et positionnement du chrome. Le chrome est de symbole *Cr*, de numéro atomique 24 et se positionne à la 4^{ème} ligne du tableau périodique, parmi les éléments de la famille des métaux de transition (www.superprof.fr/ressources/tableau-periodique/metal-de-transition.html).

II.1.2.1. Propriétés du chrome

Le chrome est dur et d'une couleur gris acier – argenté. Sa particularité est de résister à la corrosion et/ou au ternissement. Il forme uniquement des liaisons de covalence (Aziri, 2018). Ses principales caractéristiques physico-chimiques sont indiquées dans le tableau suivant (Tab. 1).

Propriétés physico-chimiques du chrome	
Symbole	Cr
Numéro atomique	24
Masse atomique	51,996 g.mol ⁻¹
Masse volumique	7,19 g.cm ⁻³ à 20 °C
Point de fusion	1875 °C
Point d'ébullition	2672 °C
Rayon atomique	0,127 nm
Isotopes stables	50, 52, 53 et 54

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques du chrome (Chiffolleau, 1994).

Le chrome existe sous plusieurs valences allant du Cr (0) au Cr (VI). Le passage d'une valence à une autre est conditionné par le potentiel redox et le pH du milieu. Deux formes se distinguent :

- Le **chrome VI** : On le retrouve sous la forme de monoxyde de chrome (CrO_4^{2-}), dichromate ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) et acide chromique (CrO_3). Considéré comme la forme la plus toxique en raison de son potentiel d'oxydation élevé, de sa forte solubilité et de son importante mobilité à travers les membranes des organismes vivants et dans l'environnement (**Shadreck, 2013**).

- Le **chrome III** : Forme plus stable, présente en solution sous forme hydroxyde : $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$ et $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$. Il peut former des complexes avec la matière organique, car possédant de nombreux groupements fonctionnels (**Benazzouze, 2016**).

II.1.2.2. Toxicité du chrome

Le Cr III est un nutriment essentiel pour l'homme et, une carence peut provoquer des problèmes au cœur, des perturbations du métabolisme et du diabète. Mais l'absorption excessive du Cr III peut aussi provoquer des problèmes de santé, par exemple des éruptions cutanées. Par contre, le Cr VI est dangereux pour la santé humaine, il peut provoquer des éruptions cutanées, des ulcères, des problèmes respiratoires, des dommages au foie et aux reins, ainsi que des cancers (**Shanker et al. 2005**).

Pour ce qui est des plantes, certains auteurs s'accordent à dire qu'il n'y a pas d'absorption du chrome par les végétaux ou seulement une absorption racinaire sans passage vers les autres parties de la plante (**Losi et al. 1994 In Desjardin, 2002**). Cependant, une étude montre que la jacinthe d'eau en culture dans un milieu riche en Cr VI est capable de réduire au niveau de ses racines ce Cr VI en Cr III. Ce dernier est alors stocké au niveau des racines mais également dans d'autres parties comme les feuilles sous une forme libre ou complexé avec des oxalates (**Lytle et al. 1998 In Desjardin, 2002**).

Les effets toxiques du chrome sur la croissance et le développement des plantes incluent, des altérations dans le processus de germination ainsi que dans la croissance des racines, des tiges et des feuilles. Ces effets sont susceptibles d'affecter la production totale de matière sèche et le rendement final. Ses effets sont aussi néfastes sur les processus physiologiques des plantes comme la photosynthèse, les relations hydriques et la nutrition minérale (**Shanker et al. 2005**).

II.2. Généralités sur le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.)

II.2.1. Origine et répartition géographique

La distribution géographique du haricot dans le monde est très diversifiée tant de point de vue climatique que de point de vue pédologique. Le haricot commun ou *Phaseolus vulgaris* L. est originaire d'Amérique centrale (Mexique et Guatemala) et d'Amérique du sud (Pérou). Transporté vers d'autres continents depuis le 16^{ème} siècle, l'espèce est bien établie dans de nombreux pays africains où elle a été ramenée par les Portugais, et c'est au niveau de la région des grands lacs d'Afrique centrale que sa culture est la plus intensive (Bouزيد, 2017).

II.2.2. Position systématique

Phaseolus vulgaris L. est de la famille des *Fabaceae*. Sa classification phylogénétique selon l'APG (2003) est la suivante (Tab. 2) :

Classification phylogénétique du haricot	
Sous-Embranchement	Angiosperme
Clade	Eudicots
Clade	Rosidées
Clade	Fabidées
Clade	Fabales
Clade	Fabaceae
Genre	<i>Phaseolus</i>
Espèce	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.

Tableau 2 : Classification phylogénétique du haricot selon l'APG, 2003.

II.2.3. Description botanique

Phaseolus vulgaris L. est une espèce herbacée, annuelle, qui peut prendre plusieurs types de port selon les variétés. Il présente une racine principale non dominante qui est très rapidement complétée de racines latérales (Fig. 3a). Ces racines peuvent atteindre un mètre de profondeur et sont le siège du phénomène de nodulation par des bactéries du genre *Rhizobium*.

Les tiges grimpantes (haricots dits à rames) sont peu ramifiées et s'enroulent autour de leur support pouvant atteindre 2 à 3 m de haut (**Fig. 3b**). Les types nains sont plus ramifiés, prenant un port buissonnant ou dressé, de 40 à 60 cm de haut.

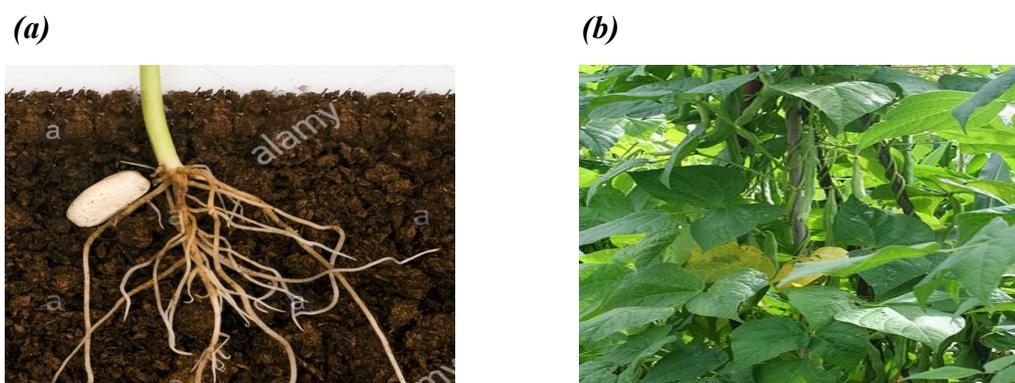


Figure 3 : Aspect général de *Phaseolus vulgaris* L. avec ses racines (**a**) et son port chez une variété dite à rames (**b**) (www.alamyimages.fr).

Les feuilles adultes sont pétiolées, alternes et composées trifoliées, de couleur verte ou pourpre. Les folioles ont une forme ovale-acuminée et sont longs de 6 à 15 cm. Les pétioles, renflés à la base sont munis de stipules. Les deux feuilles primordiales qui apparaissent immédiatement au-dessus des cotylédons sont entières et opposées (**Fig. 4a**).

Les fleurs sont groupées en grappes déterminées (racèmes) de 4 à 10 fleurs, naissant à l'aisselle des feuilles. Ce sont des fleurs hermaphrodites, zygomorphes, au calice formé de 5 sépales soudés et une corolle formée de 5 pétales inégaux et très différenciés (étendard, 2 ailes et carène) (**Fig. 4b**). Les étamines au nombre de dix sont dites diadelphes, organisées en 2 groupes, 9 d'entre elles sont soudées par le filet, la dixième étant libre. L'ovaire, supère, est formé d'un seul carpelle à placentation pariétale.

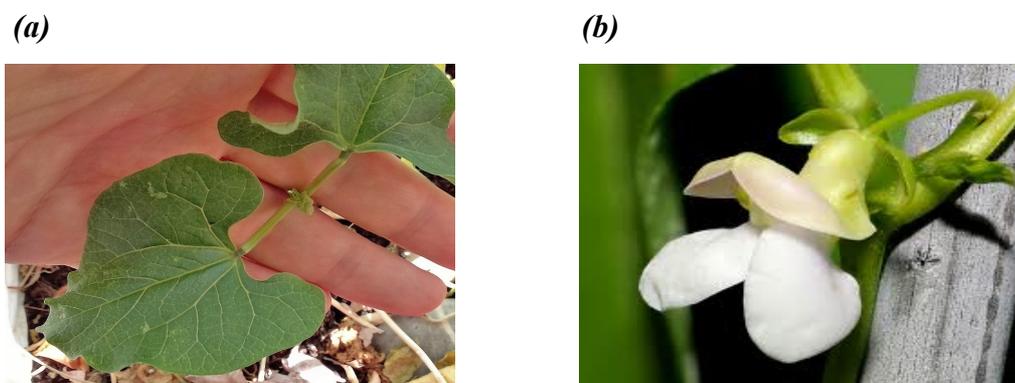


Figure 4 : Feuilles (**a**) et fleurs (**b**) de *Phaseolus vulgaris* L. (www.wikipedia.org).

Les fruits sont des gousses déhiscentes, appelées aussi cosses, de forme et de longueur variable (**Fig. 5a**). Chaque gousse renferme 4 à 8 graines de taille, forme et couleur variable. La forme la plus commune est dite réniforme, typique des haricots. Les graines sont plus ou moins grosses et leur couleur va du blanc au noir en passant par le rouge et les couleurs panachées (**Fig. 5b**).

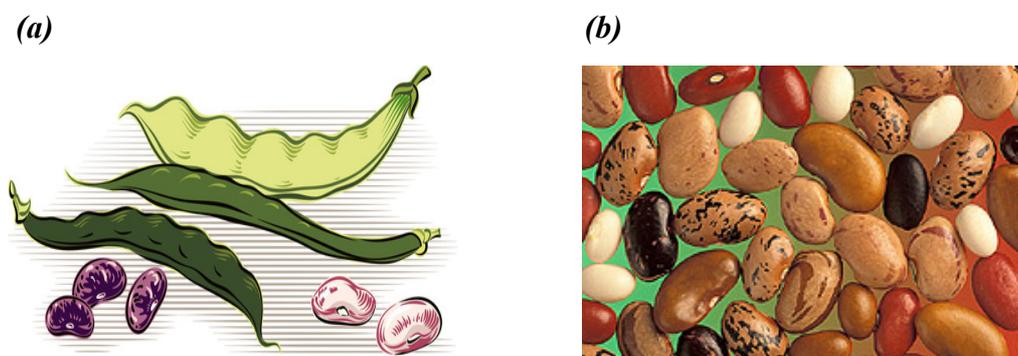


Figure 5 : Aperçu sur les gousses (**a**) et différents types de graines de *Phaseolus vulgaris* L. (**b**) (www.vectorstock.com) et (www.en.wikipedia.org/wiki/Phaseolus_vulgaris).

II.2.4. Exigences de l'espèce

Phaseolus vulgaris L. est une plante thermophile, exigeante en terme de température et de lumière. Sur le plan pédologique, l'espèce nécessite des sols perméables, à texture argilo-siliceux, fertiles et profonds, riche en humus avec un pH entre 5,3 et 6. Les besoins en eau de cette plante sont variables. Le manque d'eau en période de floraison ou au moment de la formation des gousses est préjudiciable à la récolte (**Bennabi, 2017**).

II.2.5. Importance de la culture

Les haricots apportent des protéines, des glucides et des fibres alimentaires, ainsi que des sels minéraux. Ils constituent des aliments de base pour certaines populations de pays en développement, notamment en Amérique latine et en Afrique orientale. C'est l'un des légumes les plus consommés au monde. En volume de production, il arrive au 10^{ème} rang après la pomme de terre, le manioc, la tomate, le chou, l'oignon, l'igname, le concombre, la banane et l'aubergine. C'est aussi la 1^{ère} des légumineuses consommées en légumes secs (hors soja) devant le pois, le pois chiche, le niébé et la fève (**Missihoun et al. 2017**).

II.3. L'eau

L'eau recouvre 72% de la surface de la terre. C'est un élément primordial à la survie de tous les êtres vivants. Elle a des propriétés physiques originales qui résultent de la composition de sa molécule (**Fig. 6a**) et de la façon dont ces molécules se lient entre elles. On peut la trouver sous trois formes : liquide, solide ou gazeuse (**Fig. 6b**).

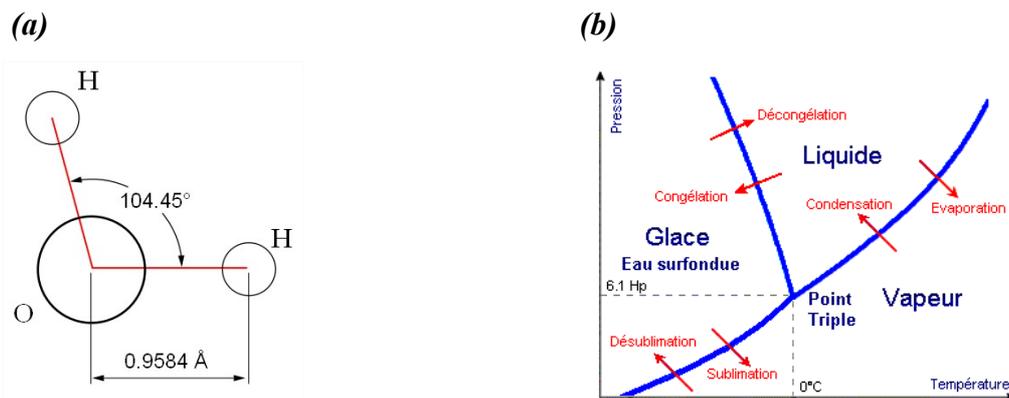


Figure 6 : Molécule d'eau (**a**) et ses différents états : vapeur, liquide et solide (**b**). La molécule d'eau est constituée d'un atome d'oxygène relié à deux atomes d'hydrogène (**a**). Ces atomes sont liés entre eux par des forces électrostatiques importantes. L'eau sous l'action conjuguée de la chaleur et de la pression atmosphérique, change d'état. On la trouve naturellement dans l'état de vapeur, l'état liquide ou l'état solide (**b**) (www.abavala.com/wp-content/uploads/).

II.3.1. L'eau dans la plante

Dans la plante, l'eau se trouve généralement à l'état liquide, mais aussi sous forme de vapeur dans les chambres sous-stomatiques des feuilles. La teneur en eau des plantes varie selon les espèces, les organes et les milieux de vie (**Labeche, 2004 In Toundou, 2016**).

II.3.2. Mouvement de l'eau dans la plante

II.3.2.1. L'eau dans le sol

Le sol est formé de particules solides, ce sont des débris de la roche mère. Leur diamètre moyen définit la texture d'un sol ou sa composition granulométrique. La texture et la porosité jouent un rôle dans la compacité d'un sol et déterminent la circulation de l'air et de l'eau dans l'environnement des racines. L'eau étant liée aux constituants du sol par des forces osmotiques, d'imbibition (ou absorption) et capillaires (**Chaumeil, 2006**).

II.3.2.2. Absorption de l'eau par les racines

L'entrée d'eau dans la plante s'effectue par les poils absorbants des racines. La surface d'absorbance de l'appareil racinaire est multipliée d'un très grand nombre de poils absorbants. Un pied de seigle de 4 mois par exemple possède environ 2500 poils absorbants par cm^2 , ce qui représente une surface de 400 m^2 . L'absorption de l'eau est considérée comme un processus passif, due à la différence entre le potentiel hydrique du poil absorbant avec celui du sol (**Chaumeil, 2006**).

II.3.2.3. Mesure de l'absorption de l'eau par les racines

On admet que la quantité d'eau absorbée dans le sol par les plantes est égale à la quantité d'eau perdue par transpiration. Les mesures de quantités d'eau puisées du sol se font donc par simple pesée et du suivi de la diminution de la masse mesurée de la quantité d'eau transpirée. Ainsi, un végétal absorbe en moyenne et par jour son propre poids en eau. Un arbre d'une forêt tempérée absorbe 500 L d'eau par jour, soit 30 tonnes/hectare/forêt. Ces quantités importantes sont couvertes par les précipitations atmosphériques (**Chaumeil, 2006**).

II.3.2.4. Facteurs contrôlant l'absorption de l'eau par les racines

Les facteurs climatiques agissent indirectement sur l'absorption de l'eau en modifiant les quantités perdues par transpiration. Ainsi, l'absorption d'eau est faible quand la température du sol diminue en dessous de certaines valeurs : 5 à 10°C en régions tempérées, 15 à 20°C en pays tropicaux. Les facteurs pédologiques jouent aussi un rôle important. En effet, la quantité d'eau absorbée par la plante est d'autant plus grande que les forces de rétention d'eau dans le sol sont faibles. En dessous d'une certaine teneur en eau du sol, on atteint le stade de flétrissement irréversible de la végétation. L'oxygénation du sol est également importante : un sol trop lourd ou humide favorise l'asphyxie des racines. Les hormones végétales notamment les auxines, ont un pouvoir de faciliter l'entrée d'eau dans les plantes en modifiant l'élasticité des parois cellulaires (**Chaumeil, 2006**).

II.3.3. Transit de l'eau dans la plante

II.3.3.1. Au niveau des racines

Lorsque l'eau pénètre dans la racine, plusieurs voies peuvent être suivies depuis l'épiderme vers l'endoderme (**Tournier, 2015**) :

- Voie apoplastique : l'eau passe par les parois sans passer par les membranes. L'apoplasme est l'ensemble des parois des lacunes et des méats.
- Voie cellulaire : l'eau pénètre dans la cellule par un côté et sort par l'autre, traversant au moins deux membranes.
- Voie symplastique : l'eau passe par le symplaste, c'est-à-dire l'ensemble des cytoplasmes connectés par les plasmodesmes (**Fig. 7**).

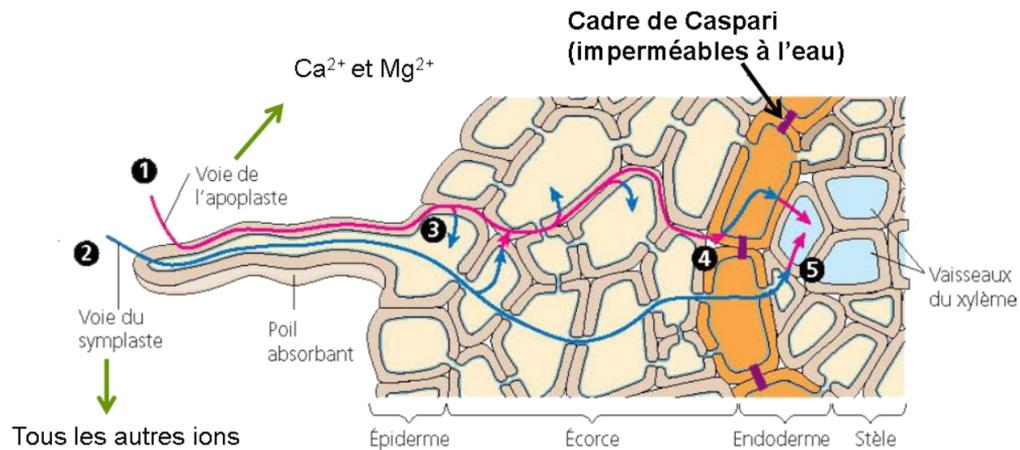


Figure 7 : Absorption et voies de circulation de l'eau au niveau des racines. Les cellules racinaires absorbent l'eau et les ions minéraux par différence de pression osmotique. La poussée radiculaire ou poussée racinaire assure la propulsion de la sève brute dans le xylème (vps170379.ovh.net/claroline-connect/web/icap_website/49/411).

II.3.3.2. Au niveau du xylème

Le xylème véhicule la sève brute, c'est la solution minérale issue du cortex et collecté par les vaisseaux. Elle contient de 0,1 à 2 g/L de sels minéraux et quelques composés organiques. Lors de sa progression, elle s'appauvrit en sels minéraux et s'enrichit en composés organiques surtout au printemps du fait de la métabolisation des réserves. La vitesse de la progression est de 1 à 6 m/h et peut atteindre 100 m/h lorsque la transpiration est maximale. Cette vitesse est nulle en hiver (**Tournier, 2015**).

II.3.4. L'émission d'eau dans l'atmosphère par évapotranspiration

Les feuilles à travers les stomates perdent en permanence de l'eau sous forme de vapeur d'eau vers l'atmosphère : c'est l'évapotranspiration. L'appel transpiratoire est un des moteurs de la circulation de la sève brute.

La différence entre le potentiel hydrique atmosphérique et celui des feuilles induit la sortie de l'eau dans l'atmosphère. La pression relative dans le xylème diminue et devient plus faible que la pression atmosphérique. Le xylème est alors sous tension, ce qui permet la montée de la sève brute. La plante doit alors être réapprovisionnée en eau à partir des racines pour compenser l'eau perdue (Ferreira *et al.* 1994 In Allario, 2009). Il existe donc un continuum entre sol, la plante et l'atmosphère (Fig. 8).

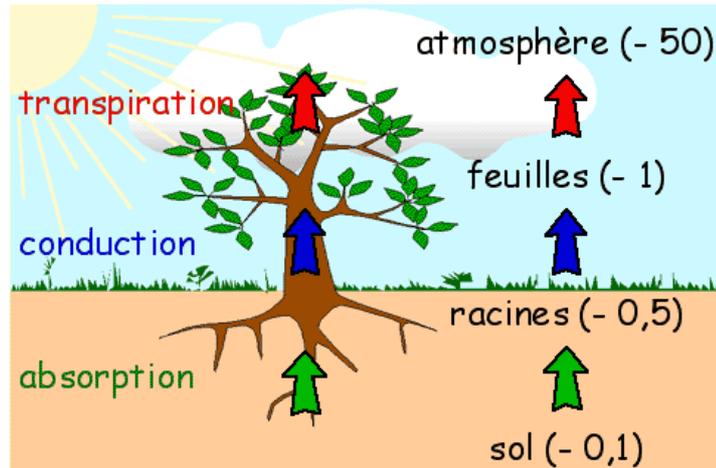


Figure 8 : Continuum sol – plante – atmosphère. L'eau absorbée dans le sol par les racines est conduite dans toutes les parties de la plante. Une partie est éliminée dans l'atmosphère par la transpiration. Dans une région humide de climat tempéré, la concentration de l'eau du sol est très faible et le potentiel hydrique du sol est proche de zéro (potentiel de l'eau). Le potentiel de l'atmosphère, même par une journée humide, est très négatif. L'eau passe d'un territoire à l'autre dans le sens des potentiels décroissants. Elle passe donc de manière purement physique du sol vers l'atmosphère et provoque donc un flux hydrique continu dans la plante (www.futura-sciences.com/planete/dossiers/).

II.3.5. Rôles de l'eau dans la plante

L'eau est d'une importance capitale pour le bon fonctionnement physiologique et moléculaire de la plante. On pourra citer à ce titre les propriétés suivantes :

- Le maintien de la turgescence cellulaire évitant ainsi le flétrissement.
- Transport des éléments minéraux via les vaisseaux du xylème.
- Régulateur thermique des parties aériennes. La perte d'eau par transpiration permet de diminuer une partie importante de l'énergie qu'elles reçoivent du soleil et de supporter ainsi son rayonnement (Hopkins, 2003 In Ouis, 2008).

II.4. Proline

II.4.1. Définition

La proline est un acide α -aminé dont l'énantiomère L est l'un des 22 acides aminés protéinogènes. C'est le seul acide aminé protéinogène ayant une amine secondaire et non primaire, ce qui lui confère une géométrie particulière tendant à interrompre les structures secondaires des protéines telles que les hélices α et les feuillets β . La proline forme des résidus apolaires qui en polymérisant peuvent former divers types de protéines dans une famille dite des polyprolines. Le cycle de la proline est presque plan. Cela peut être montré en considérant les angles de liaison dans ce cycle (**Fig. 9**).

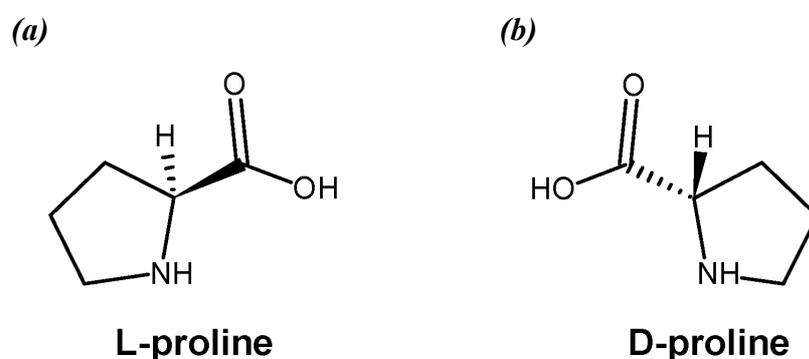


Figure 9 : Représentation de la structure chimique de L ou *S*(-)-proline (a) et de D ou *R*(+)-proline (b) (www.mdpi.com/1660-3397/14/11/194/html).

L'identification et certaines des propriétés chimiques et biochimiques de la proline sont rapportées dans le tableau suivant (**Tab. 3**) :

Nom UICPA	acide pyrrolidine-2-carboxylique
Synonymes	P, Pro
Formule brute	C ₅ H ₉ NO ₂
Masse molaire	115,13 g/mol
pKa	1,95 – 10,64
Codons	CCA, CCU, CCG, CCC
pH isoélectrique	6,30
Occurrence chez les vertébrés	5,0%

Tableau 3 : Identification et quelques propriétés chimiques et biochimiques de la proline (fr.wikipedia.org/wiki/Proline).

II.4.2. Biosynthèse de la proline

La proline est synthétisée selon deux voies : l'une principale impliquant le glutamate et l'autre secondaire via l'ornithine (Delauney & Verma, 1993).

II.4.2.1. Biosynthèse de la proline via le glutamate

La synthèse de la proline s'effectue dans le cytoplasme et/ou dans le chloroplaste à partir d'un précurseur : le glutamate. Elle nécessite une enzyme clef, la P5CS (Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthétase) qui catalyse une réaction en deux étapes en présence de l'ATP et le NADPH. Cette réaction permet de générer le glutamate γ -semialdéhyde (GSA). Ce dernier se cyclise spontanément en Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate (P5C), qui est ensuite réduit en proline dans une réaction catalysée par une Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate réductase (P5CR) dépendante du NADPH (Fig. 10).

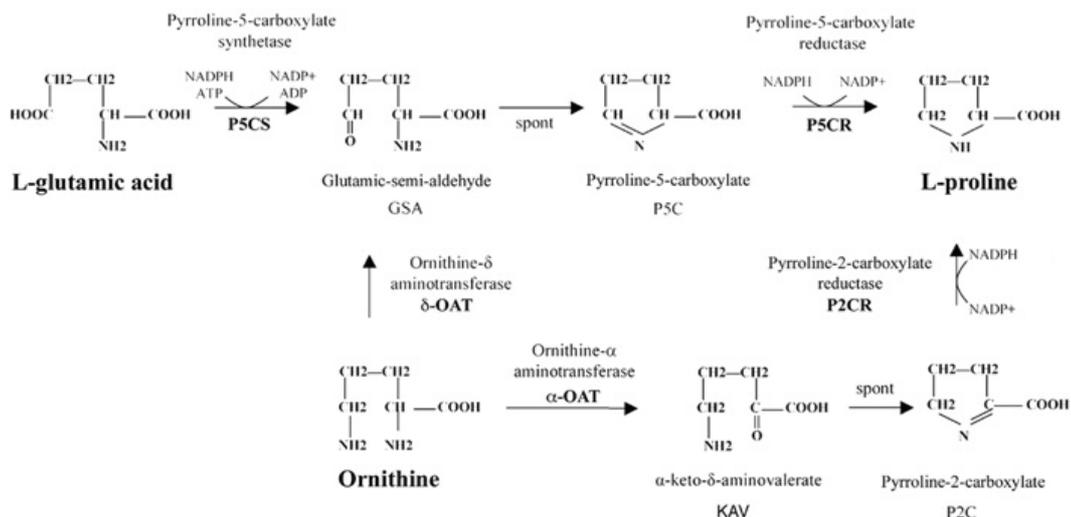


Figure 10 : Les deux voies de biosynthèse de la proline : voie principale impliquant le glutamate et la seconde voie via l'ornithine (www.researchgate.net/figure/Pathway-of-proline-biosynthesis-and-degradation-in-higher-plants_fig2_226456939).

II.4.2.2. Biosynthèse de la proline via l'ornithine

La voie de synthèse de la proline peut prendre deux cheminements différents. Le premier fait intervenir une ornithine- α -aminotransférase (α -OAT) capable de donner une pyrroline-2-carboxylate (P2C), puis la proline en présence d'une pyrroline-2-carboxylate réductase (P2CR) et du NADP⁺. L'autre cheminement fait intervenir une ornithine- δ -aminotransférase (δ -OAT) qui redonne le glutamate γ -semialdéhyde (GSA), un intermédiaire de la synthèse de la proline via la voie du glutamate (Fig. 10).

II.4.3. Catabolisme de la proline

Au niveau de la mitochondrie, le catabolisme de la proline en glutamate se produit grâce à l'action de deux enzymes : la proline déshydrogénase (ProDH) et de la Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate déshydrogénase (P5CDH). L'enzyme ProDH catalyse l'oxydation de la proline en Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate (P5C) et l'enzyme P5CDH convertit le P5C en glutamate (Fig. 11) (Szabados & Savouré, 2010 ; Verslues and Sharma, 2010).

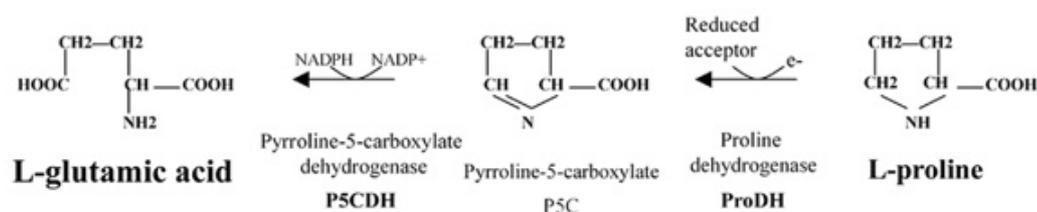


Figure 11 : Catabolisme de la proline en acide glutamique dans l'espace mitochondrial. (www.researchgate.net/figure/Pathway-of-proline-biosynthesis-and-degradation-in-higher-plants_fig2_226456939).

II.4.4. Facteurs favorisant l'accumulation de la proline

L'accumulation de la proline se produit principalement en réponse à des contraintes comme la sécheresse, la salinité et le gel. Elle peut également se produire en réponse à la toxicité induite par les métaux lourds, l'interaction avec des agents pathogènes et d'autres stimuli abiotiques et biotiques (Fabro *et al.* 2004 ; Verslues *et al.* 2006 ; Sharma & Dietz, 2009).

II.4.5. Rôles de la proline

La proline est l'un des solutés compatibles les plus fréquemment accumulés en réponse à des contraintes environnementales et joue de multiples rôles dans la tolérance des plantes comme (Fig. 12) (Ben Ahmed *et al.* 2010 In Ben Yahmed, 2013 ; Heuer, 2010 ; Szabados & Savouré, 2010 ; Verslues & Sharma, 2010 ; Ben Redjeb *et al.* 2012) :

- Stabilisateur de protéines, des complexes macromoléculaires et des systèmes membranaires.
- Osmolyte compatible, accumulé au niveau du cytoplasme, même à des niveaux très élevés sans pour autant perturber les structures cellulaires ; il permet ainsi la rétention de l'eau et évite son départ vers le milieu extracellulaire.

- Piège les radicaux libres, débarrasse les cellules des espèces réactives d'oxygène (ROS) et régule le potentiel redox cellulaire.
- Molécule impliquée dans la transduction du signal et module les fonctions et/ou l'expression de gènes spécifiques.

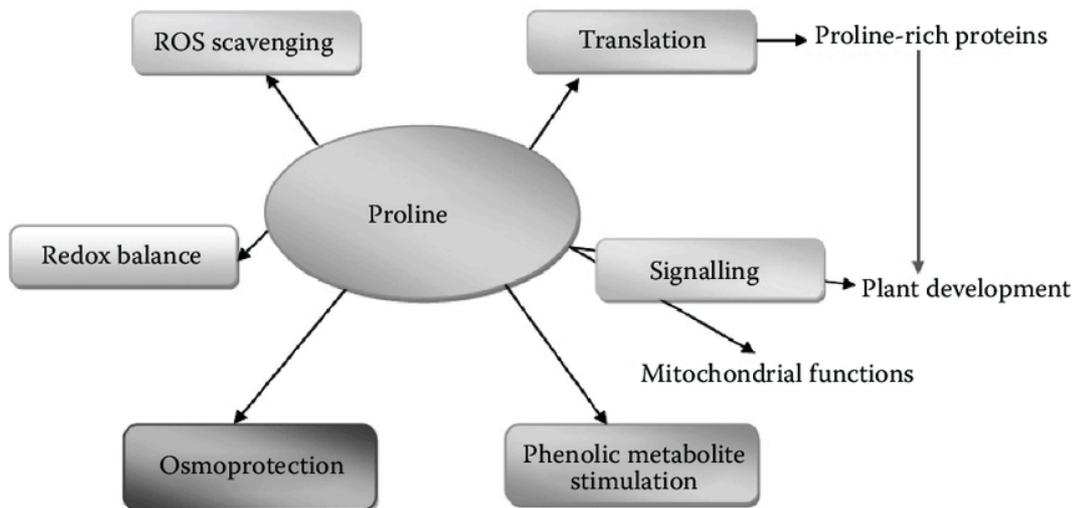


Figure 12 : Multiples rôles de la proline accumulée en situation de stress chez les plantes. La proline joue un rôle potentiellement dans la détoxification des espèces réactives d'O₂ (ROS), contrôle la balance redox, assure l'osmoprotection, stimule le métabolisme phénolique et assure la transduction du signal dans les processus de développement et des fonctions des mitochondries (www.researchgate.net/figure/Multifunctional-roles-of-proline-in-plants-to-mitigate-deleterious-effects-of-salinity_fig1_281167554).

III.1. Matériel végétal et application du stress

III.1.1. Origine des graines

Les graines retenues pour la présente étude sont de l'espèce *Phaseolus vulgaris L.* var. *El-Djadida*. Ce sont des graines commercialisées, plus ou moins réniformes et de couleur marron noirâtre (**Fig. 13**).



Figure 13 : Graines de *Phaseolus vulgaris L.* var. *El-Djadida*.

III.1.2. Préparation des graines pour la germination

III.1.2.1. Imbibition des graines

Les graines de *Phaseolus vulgaris L.* var. *El-Djadida* sans traitement préalable, sont mises à imbiber la veille du début des expérimentations dans de l'eau distillée pendant toute une nuit. L'eau est fréquemment renouvelée afin d'éliminer les substances phénoliques qui peuvent se dégager des téguments et qui risquent d'entraver la germination des graines.

III.1.2.2. Germination des graines

Une centaine de graines imbibées sont mises à germer dans des boîtes en plastique de forme rectangulaire, à raison d'une douzaine de graines par boîte. Ces boîtes sont tapissées de papier absorbant et sont imbibées d'eau distillée, une dizaine de ml par boîte (**Fig. 14a**).

Les graines ainsi préparées germent dans une étuve à l'obscurité et à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Chaque jour, pendant le déroulement de la germination, les graines sont retirées et transférées dans de nouvelles boîtes avec du papier absorbant renouvelé, pour éviter tout risque de contamination (**Fig. 14b**).

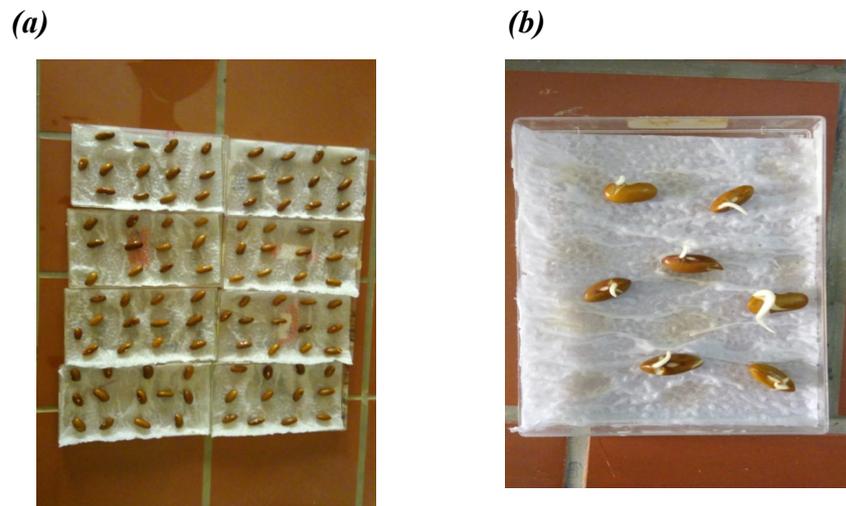


Figure 14 : Mise à germination **(a)** et percée radriculaire **(b)** des graines de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida*.

III.1.3. Culture des plants de *Phaseolus vulgaris* L.

III.1.3.1. Substrat de culture

Après germination des graines, les plants sont repiqués dans des pots en plastique de 5 cm de diamètre et de 10 cm de hauteur. Ces pots contiennent un mélange de sable/terreau (1/2 ; v/v). Le terreau étant le substrat de culture, le sable permet un drainage progressif.

III.1.3.2. Conditions de culture

L'arrosage des pots (3 plants/pot) se fait 3 fois par semaine et la croissance des plants se déroule dans les conditions du laboratoire de physiologie végétale de la FSNV de l'université de Bejaia : photopériode et thermopériode prévalant durant les mois de mars, avril et mai de l'année 2019.

La croissance s'étale sur 2 à 3 semaines pour permettre le développement complet des 2 premières feuilles. Ces feuilles seront utilisées pour nos différentes manipulations.

III.1.4. Préparation de la solution du dichromate de potassium

III.1.4.1. Dichromate de potassium

Le dichromate de potassium utilisé dans nos différentes expérimentations est un solide ionique orange de formule $K_2Cr_2O_7$ (**Fig. 15**).

Dans l'eau, il se dissocie en ions dichromate et en ions potassium. L'ion dichromate ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) étant un puissant agent oxydant, ce produit est couramment utilisé dans les réactions d'oxydo-réduction. Comme tous les composés du chrome hexavalent, le dichromate est dangereux pour la santé.



Masse molaire : 294,18 g/mol
Masse volumique : 2,7 g/cm³
Point d'ébullition : 500°C
Formule brute : $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$
Nom UICPA : Dichromate de potassium

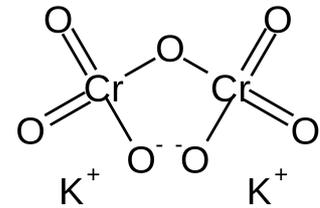


Figure 15 : Fiche technique du dichromate de potassium ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). (fr.wikipedia.org/wiki/Dichromate_de_potassium).

III.1.4.2. Préparation de la solution du dichromate de potassium

Des solutions de dichromate de potassium à appliquer en conditions de culture hydroponique aux plants de *Phaseolus vulgaris* L. ont été préparées. Il s'agit des concentrations massiques de [300, 600, 900 et 1200 ppm]. Avant usage, ces solutions sont stockées dans des flacons étiquetés, conservés à l'abri de la lumière et à la température ambiante du laboratoire.

III.1.5. Application du stress

Les plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* sont déterrés de leur substrat de culture, lavés soigneusement avec l'eau de robinet pour se débarrasser des résidus du sol qui collent à leurs racines, puis sont transférés en conditions de culture hydroponique dans des béciers renfermant la concentration massique spécifiée de la solution du dichromate de potassium (**Fig. 16**).

La durée de la culture hydroponique en solution du dichromate de potassium est de 1, 3, 6 et 24h. Des prélèvements pour nos différentes manipulations sont effectués à chacun de ces temps.

Les plants témoins sont traités de la même façon, puis sont mis en conditions de culture hydroponique dans des béciers, contenant de l'eau distillée uniquement (**Fig. 16**). Les prélèvements ont été effectués également aux mêmes moments.



Figure 16 : Plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* en conditions de culture hydroponique. A droite, les plants témoins en culture hydroponique dans de l'eau distillée ; à gauche, les plants stressés en culture hydroponique dans une concentration massique connue de dichromate de potassium.

III.2. Méthodes utilisées

III.2.1. Teneur en eau des feuilles

La teneur en eau des feuilles est calculée après une première pesée des feuilles découpées (**PF**), suivie d'une seconde pesée après une dessiccation de 48h à 60°C au four (**PS**). La teneur en eau est déterminée selon la relation suivante (**Monneveux, 1991**) :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = [(PF - PS) / (PF)] \times 100$$

(**PF**) = poids frais et (**PS**) = poids sec.

III.2.2. Teneur relative en eau des feuilles

La teneur relative en eau des feuilles est déterminée d'après la méthode de **Turner (1986)**. Les feuilles sont excisées, puis pesées après quelques minutes de stabilisation avec le milieu extérieur (**PF**). Elles sont ensuite, mises à imbiber dans de l'eau distillée pendant 24h à l'obscurité et à 4°C, puis pesées pour déterminer leur poids à la turgescence (**PT**). Enfin, leur poids sec (**PS**) est déterminé après une dessiccation de 48h à 60°C au four. La teneur relative en eau est calculée selon la relation établie par **Ladigues (1975)** :

$$\text{Teneur relative en eau (\%)} = [(PF - PS) / (PT - PS)] \times 100$$

(**PF**) = poids frais ; (**PS**) = poids sec et (**PT**) = poids à la turgescence.

III.2.3. Extraction et dosage de la proline

III.2.3.1. Extraction

Les feuilles sèches conservées à l'abri de l'humidité sont broyées séparément à sec, puis dans 3 ml de méthanol. Après agitation au vortex, les tubes contenant les extraits sont portés au bain-marie pendant 1h à 85°C. Pour éviter l'évaporation du méthanol durant le chauffage, les tubes sont hermétiquement fermés.

III.2.3.2. Dosage

La quantité en proline est déterminée par la méthode de **Troll & Lindsley (1955)**, simplifiée par **Bates *et al.* (1973)**. La proline réagit en milieu acide et à chaud avec la ninhydrine, en donnant un composé rouge orangé soluble dans le toluène.

A 1 mL de l'extrait, sont rajoutés 1 mL d'acide acétique concentré et 1 mL du réactif à ninhydrine (1,25 g de ninhydrine dissous dans 30 mL d'acide acétique glacial + 7,5 mL d'acide orthophosphorique à 85% + 12,5 mL d'eau distillée). Après une agitation au vortex, le mélange est porté à ébullition dans un bain-marie durant 1 h. La solution vire au rouge foncé.

Après refroidissement des tubes, 3 mL de toluène sont rajoutés au mélange ainsi qu'une pincée de Na₂SO₄ pour éliminer l'eau qu'il renferme. Après une agitation énergique, deux phases se développent au bout d'une nuit de décantation et la phase supérieure contenant la proline est récupérée à l'aide d'une pipette Pasteur.

La densité optique est mesurée à 515 nm au spectrophotomètre. La courbe étalon est réalisée à l'aide d'une solution mère de proline à 1 mM. Les dilutions préparées varient de 0,1 à 0,8 mM (**Fig. 17**).

La quantité en proline, moyenne de trois essais sera exprimée en mg/100 mg de matière végétale sèche.

III.2.4. Analyse statistique

Les résultats présentés expriment pour l'analyse du statut hydrique foliaire une valeur moyenne de 10 répétitions \pm intervalle de confiance (IC \pm 1,96 erreur standard). Pour ce qui est de la proline, la valeur moyenne est déterminée sur la base de 3 répétitions \pm intervalle de confiance (IC \pm 1,96 erreur standard).

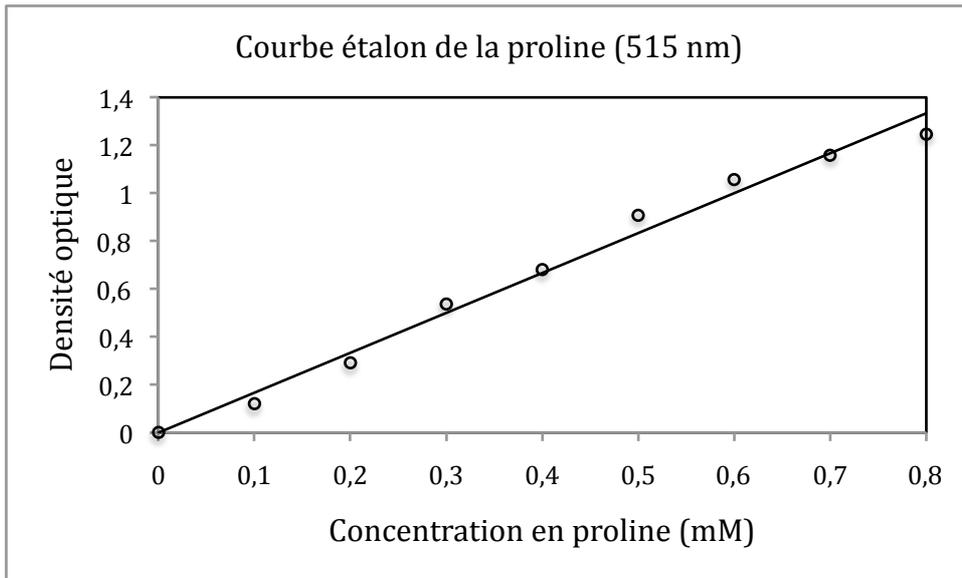


Figure 17 : Courbe étalon de la proline (densité optique lue à $\lambda = 515$ nm).

IV.1. Teneur en eau des plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida*

IV.1.1. Teneur en eau des plants traités par une [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$

Les deux premières feuilles des plants de *Phaseolus vulgaris* L., qui ont poussés normalement dans un substrat de culture, montrent une teneur en eau moyenne de $94,3 \pm 0,3\%$. Transférés en conditions de culture hydroponique en présence d'eau seulement, la teneur en eau de leurs deux premières feuilles n'évolue pas pendant les 24 premières heures de la culture (**Fig. 18**). Les plants transférés en culture hydroponique en présence d'une concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$, montrent les mêmes valeurs de teneur en eau, que ceux des témoins à 1 h, 3 h et 6 h. La différence est observée au temps de 24 h où les deux premières feuilles des plants stressés montrent une teneur en eau de $92,1 \pm 0,4\%$, significativement inférieure comparativement aux deux premières feuilles des plants témoins ($93,9 \pm 0,2\%$) (**Fig. 18**).

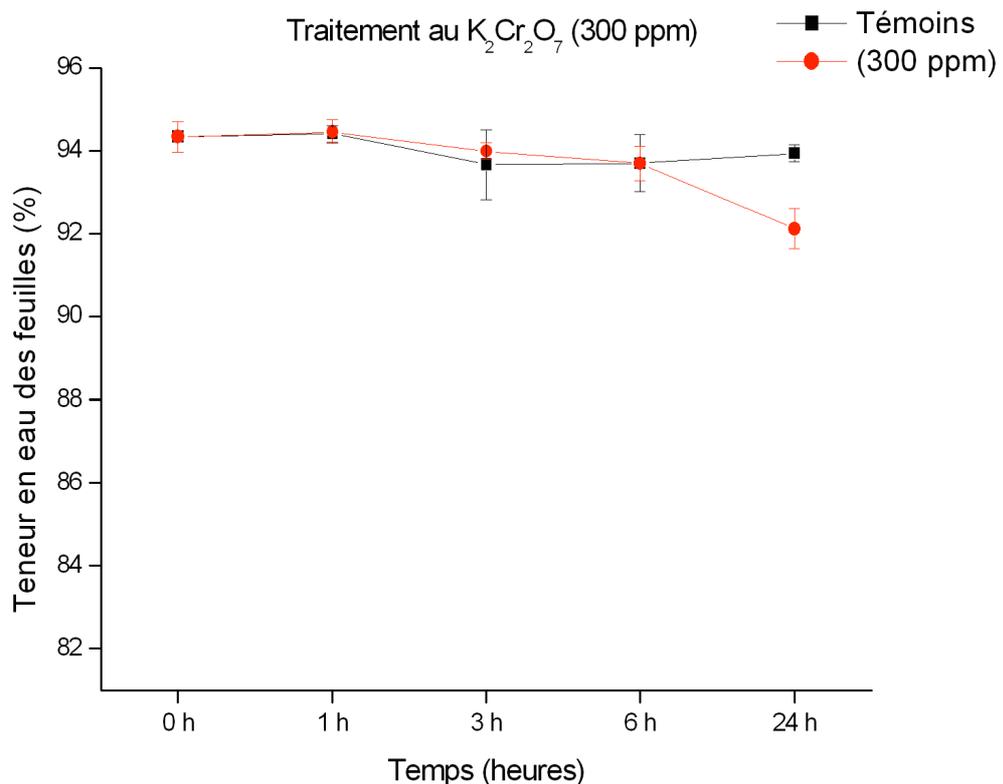


Figure 18 : Evolution de la teneur en eau des deux première feuilles des plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* témoins et traités par une concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps \pm intervalle de confiance.

IV.1.2. Teneur en eau des plants traités par une [600 ppm] en $K_2Cr_2O_7$

Les deux premières feuilles des plants de *Phaseolus vulgaris* L., mis en culture hydroponique en présence d'une concentration de [600 ppm] en $K_2Cr_2O_7$, montrent également les mêmes valeurs en teneur en eau comparativement aux teneurs en eau des deux premières feuilles des plants témoins non traités par l'élément trace métallique. Ces valeurs similaires ont été enregistrées aux temps 1 h, 3 h et 6 h (**Fig. 19**).

Comme dans le cas du traitement avec la concentration de [300 ppm], la différence est significative à 24 h entre plants témoins et plants traités par une concentration de [600 ppm]. En effet, la teneur en eau enregistrée dans les deux premières feuilles des plants stressés par une concentration de [600 ppm] est de $89,3 \pm 1,5\%$. Elle est nettement inférieure à celle des deux premières feuilles des plants témoins ($93,9 \pm 0,2\%$) (**Fig. 19**).

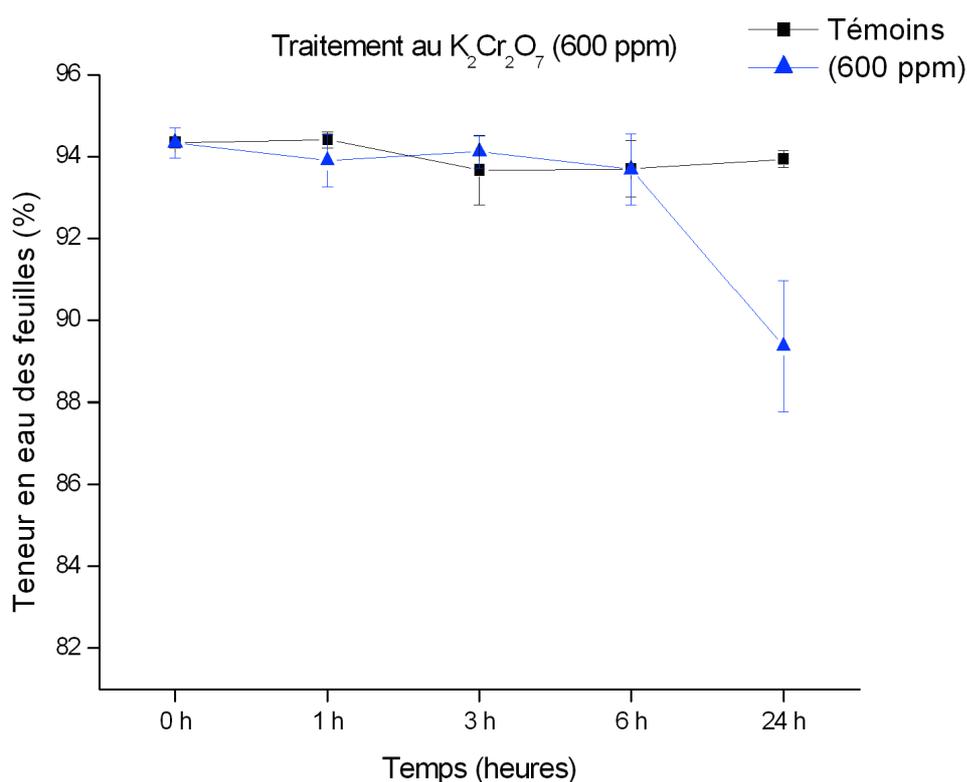


Figure 19 : Evolution de la teneur en eau des deux première feuilles des plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* témoins et traités par une concentration de [600 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps \pm intervalle de confiance.

IV.1.3. Teneur en eau des plants traités par une [900 ppm] en $K_2Cr_2O_7$

En traitant les plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* par une concentration de [900 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ et en conditions de culture hydroponique, on observe une identité parfaite aux temps 1 h, 3 h et 6 h, par rapport à l'évolution de la teneur en eau de leurs deux premières feuilles par comparaison à ce qui a été observé dans les deux premières feuilles des plants témoins non traités par l'élément chrome et aux mêmes moments de mesure (Fig. 20).

Comme dans les deux cas précédents (traitements de [300 et 600 ppm]), une différence significative est enregistrée après un traitement de 24 h entre plants témoins et plants traités par une concentration plus élevée ([900 ppm]). La teneur en eau enregistrée dans les deux premières feuilles des plants stressés par cette concentration est de $84,9 \pm 0,7\%$, nettement inférieure à celle des deux premières feuilles des plants témoins ($93,9 \pm 0,2\%$) (Fig. 20).

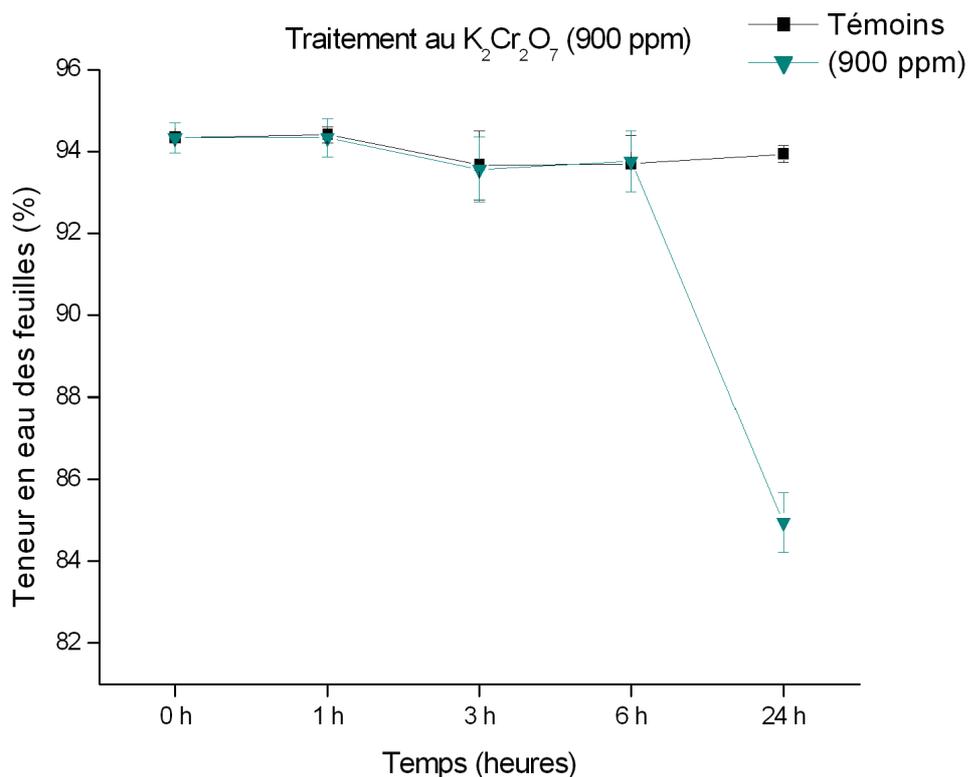


Figure 20 : Evolution de la teneur en eau des deux première feuilles des plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* témoins et traités par une concentration de [900 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps \pm intervalle de confiance.

IV.1.4. Teneur en eau des plants traités par une [1200 ppm] en $K_2Cr_2O_7$

Un traitement encore plus fort ([1200 ppm] en $K_2Cr_2O_7$), appliqué en conditions de culture hydroponique aux plants de *Phaseolus vulgaris* L., ne change pas la teneur en eau de leurs deux premières feuilles par comparaison aux deux premières feuilles des plants témoins, et ce notamment aux temps 3 et 6 h. Même la différence observée au temps 1 h, est estompée par l'intervalle de confiance calculé, rendant la différence non significative entre les teneurs en eau des deux premières feuilles des plants traités ($93,2 \pm 1,4\%$) vis-à-vis de celles des plants témoins ($94,4 \pm 0,1\%$) (**Fig. 21**).

En prolongeant la durée de la culture hydroponique à 24 h, avec l'intensité du stress appliqué ([1200 ppm]), la différence entre plants traités et plants témoins est très importante. En effet, la teneur en eau enregistrée dans les deux premières feuilles des plants traités est de $82,4 \pm 0,7\%$ contre seulement une teneur en eau de $93,9 \pm 0,2\%$ dans les deux premières feuilles des plants témoins (**Fig. 21**).

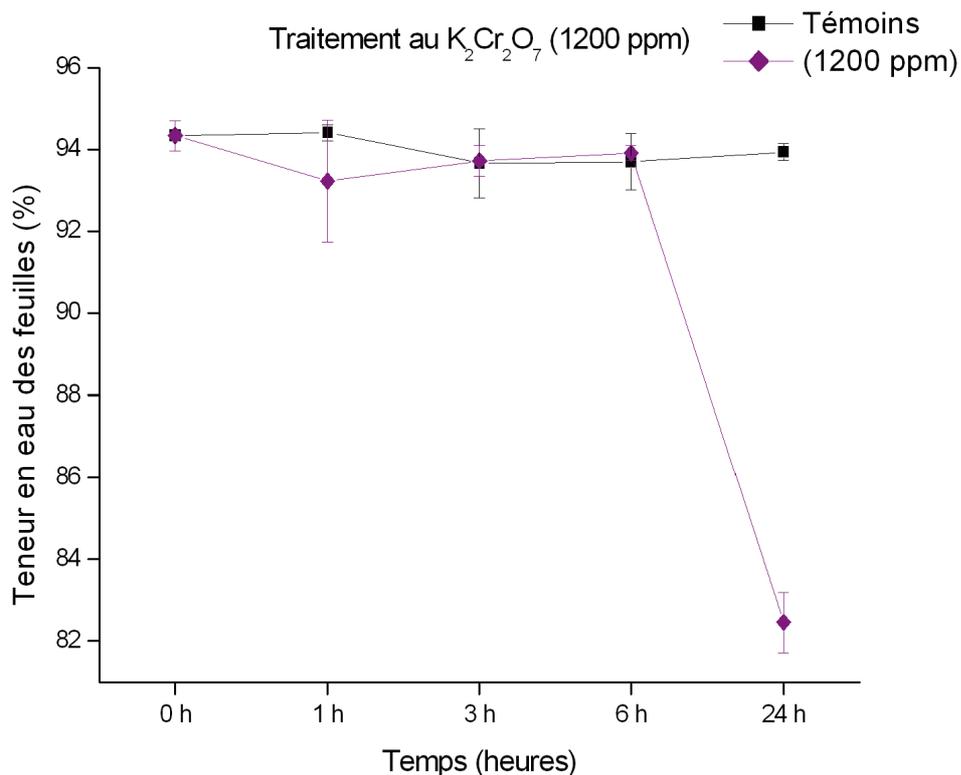


Figure 21 : Evolution de la teneur en eau des deux première feuilles des plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* témoins et traités par une concentration de [1200 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps.

IV.1.5. Synthèse globale sur les teneurs en eau des plants traités par du $K_2Cr_2O_7$

L'effet de l'élément trace métallique, en l'occurrence le chrome, a été testé en culture hydroponique sur des plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida*. La cinétique de l'évolution de la teneur en eau des deux premières feuilles a été suivie pendant différentes heures (1 h, 3 h, 6 h et 24 h), après des applications de différentes concentrations [300, 600, 900 et 1200 ppm] en $K_2Cr_2O_7$. Les enseignements tirés de cette étude montrent :

- Aucune différence significative entre les lots traités et les lots témoins n'a été observée aux temps 1 h, 3 h et 6 h. Pendant ces temps, tous les lots montrent des teneurs en eau similaires en tenant compte des intervalles de confiance (**Fig. 22**).
- Les différences sont statistiquement significatives au temps de 24 h d'une part, entre tous les lots traités vis-à-vis des plants témoins, et d'autre part entre lots traités eux-mêmes (**Tab. 4**).

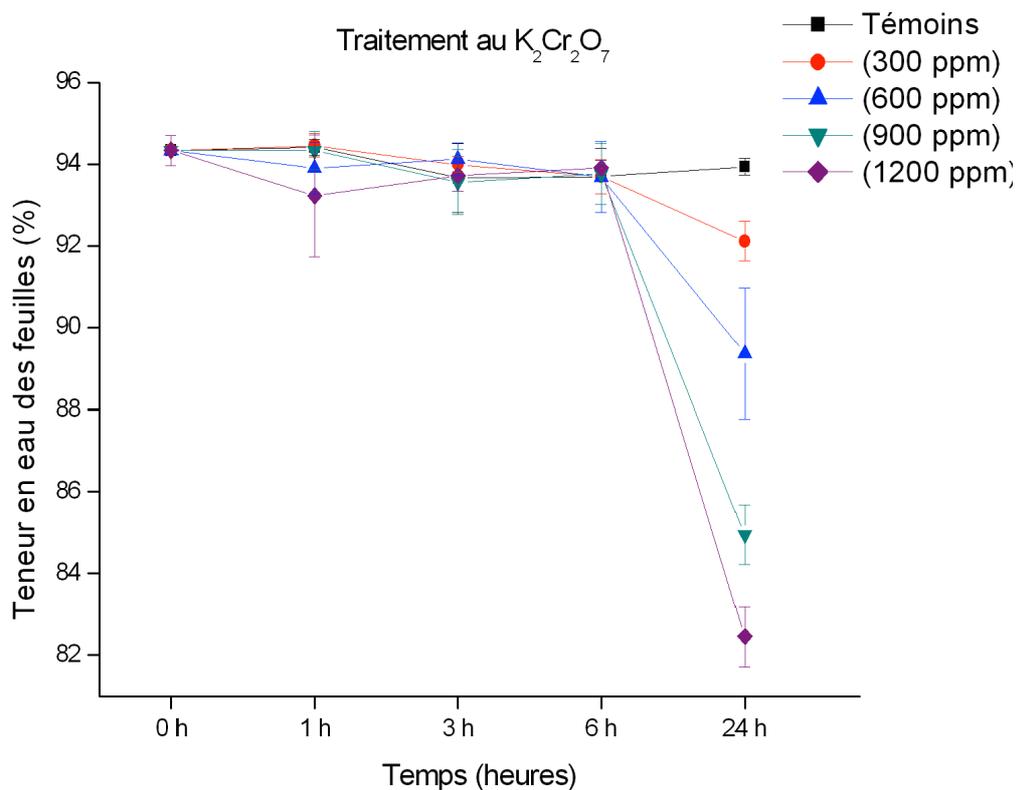


Figure 22 : Evolution de la teneur en eau des deux première feuilles des plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* témoins et traités par différentes concentrations [300, 600, 900 et 1200 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps \pm intervalle de confiance.

Le pourcentage de réduction de la teneur en eau des deux premières feuilles calculé pour chacun des traitements vis-à-vis des plants témoins, rend compte des différences significatives enregistrées pendant le temps 24 h. Ainsi, pour le traitement de [300 ppm], le pourcentage de réduction est significatif (1,93%) ; il passe à 4,86% pour un traitement de [600 ppm], puis augmente à 9,56% pour un traitement de [900 ppm]. Le pourcentage de réduction culmine à 12,22% pour une application en chrome la plus élevée [1200 ppm], comparativement au lot témoin (**Tab. 4**).

Tableau 4 : Pourcentages de réduction de la teneur en eau moyenne des deux premières feuilles des lots témoins vis-à-vis des teneurs en eau moyennes des deux premières feuilles des lots traités par différentes concentrations [300, 600, 900 et 1200 ppm] en $K_2Cr_2O_7$, puis des lots traités entre eux. Ces pourcentages de réduction ont été déterminés à la 24^{ème} heure des expérimentations.

$K_2Cr_2O_7$	% de réduction de la teneur en eau entre les différents lots				
	Témoin	300 ppm	600 ppm	900 ppm	1200 ppm
Témoin	-----	-----	-----	-----	-----
300 ppm	1,93	-----	-----	-----	-----
600 ppm	4,86	2,98	-----	-----	-----
900 ppm	9,56	7,78	4,94	-----	-----
1200 ppm	12,22	10,48	7,73	2,93	-----

Entre lots traités, le pourcentage de réduction de la teneur en eau des deux premières feuilles calculé pour le traitement de [300 ppm] vis-à-vis des autres lots de traités, semble suivre les mêmes paliers que ce qui a été relevé précédemment. Ainsi, le pourcentage de réduction de la teneur en eau du lot traité par des concentrations de [600, 900 et 1200 ppm] sont respectivement de 2,98% ; 7,78% et 10,48% comparé au lot traité par une concentration de [300 ppm] (**Tab. 4**).

C'est ce qui se dégage également pour le traitement de [600 ppm] vis-à-vis des deux autres lots [900 et 1200 ppm]. Leurs pourcentages de réduction sont respectivement de 4,94% et 7,73% comparativement au lot traité par la concentration de [600 ppm] (**Tab. 4**).

Idem pour le lot traité par une concentration de [1200 ppm], qui est plus faible de 2,93% par rapport au lot traité par une concentration de [900 ppm] (**Tab. 4**).

IV.2. Teneur relative en eau des plants de *Phaseolus vulgaris* L.

La teneur relative en eau (*TRE*) est un très bon indice pour apprécier l'état hydrique réel d'une plante. Elle évolue selon l'intensité de la contrainte subie et dépend de l'espèce végétale (Turner, 1986). A cet effet, cette *TRE* a été déterminée chez les plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* mis en culture hydroponique en présence d'eau seulement et chez des plants traités par la seule concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ (Fig. 23).

Avant de passer en mode de culture hydroponique, la *TRE* est déterminée sur les plants qui ont poussés normalement dans leur substrat de culture. Ce temps considéré comme $t = 0$ h, montre une *TRE* de $91,8 \pm 1,3\%$. Après transfert en mode de culture hydroponique en présence d'eau seulement, la *TRE* de leurs deux premières feuilles ne varie pas substantiellement à la 1^{ère} ($91,9 \pm 1,8\%$) et à la 3^{ème} h ($93,1 \pm 2,9\%$) de la culture (Fig. 23).

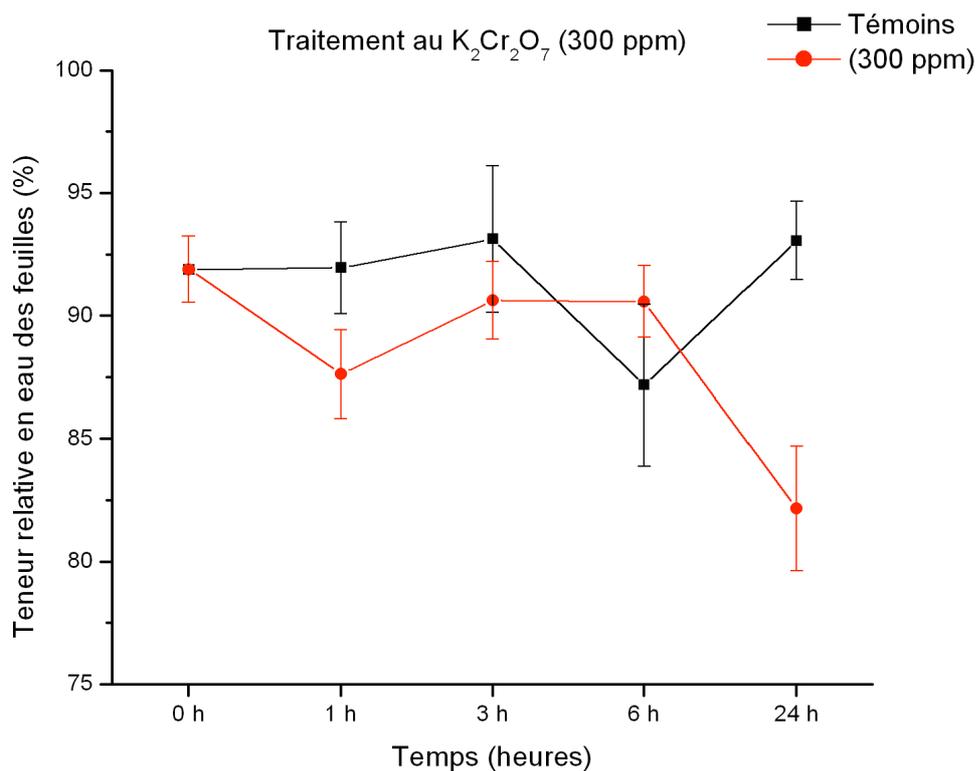


Figure 23 : Evolution de la teneur relative en eau des deux première feuilles des plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* témoins et traités par une concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps \pm intervalle de confiance.

C'est à la 6^{ème} heure, que l'on constate une baisse significative de la *TRE* des deux premières feuilles des plants témoins : de $93,1 \pm 2,9\%$ à la 3^{ème} h vers $87,1 \pm 3,2\%$ à la 6^{ème} h. Cette baisse est compensée par un gain d'eau les heures suivantes, où l'on constate une élévation de la *TRE* qui reprend sa valeur constatée à la 3^{ème} h. En effet, la *TRE* obtenue à 24 h ($93,0 \pm 1,6\%$) est de même ordre que celle de la 3^{ème} h ($93,1 \pm 2,9\%$) (**Fig. 23**).

Chez les plants transférés en culture hydroponique en présence d'une concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$, on observe un comportement différent de celui relaté pour les plants témoins. Ainsi, la *TRE* des deux premières feuilles des plants traités diminue dès la 1^{ère} h du traitement de $91,8 \pm 1,3\%$ à $87,6 \pm 1,8\%$. Elle regagne un peu sa valeur proche de celle des plants témoins à la 3^{ème} ($90,6 \pm 1,5\%$) et à la 6^{ème} h ($90,5 \pm 1,4\%$), puis diminue une nouvelle fois entre le temps 6 h et 24 h. Cette diminution est même très substantielle et tourne autour d'une valeur moyenne de $82,1 \pm 2,5\%$ (**Fig. 23**).

De l'analyse de tous ces résultats obtenus, il en ressort de point de vue *TRE*, une différence entre le comportement des plants témoins et des plants traités par une concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$:

- Au sein des plants témoins, baisse assez significative de la valeur de la *TRE*, observée entre la 3^{ème} et la 6^{ème} h de la culture hydroponique, qui semble s'estomper entre la 6^{ème} et la 24^{ème} h de la culture.
- Chez les plants traités par l'élément chrome, une double baisse de la valeur de la *TRE* est observée : la première est entre 0 et 1 h ; la seconde entre 6 et 24 h. Entre le temps 1 et 6 h, nous constatons beaucoup plus une stabilisation de la valeur de la *TRE*.

Ces dernières constatations sont confortées par l'analyse du pourcentage de réduction de la *TRE* des deux premières feuilles calculé pour le traitement appliqué pendant les différents temps par comparaison au temps référentiel $t = 0$ h, où l'on se rend compte de la valeur de la diminution constatée à la 1^{ère} et à la 24^{ème} h du traitement. En effet, le pourcentage de réduction enregistré est de 4,62% à la 1^{ère} h ; il passe à 10,58% à la 24^{ème} h ; pendant qu'il n'évolue presque pas à la 3^{ème} (1,37%) et à la 6^{ème} h (1,41%) du traitement (**Tab. 5**).

Idem, lorsque on compare les pourcentages de réduction enregistrés pendant les différents temps entre eux, indépendamment du temps référentiel de 0 h. Ces pourcentages de réduction ne sont forts importants que pour le temps de 24 h vis-à-vis des temps 1 h, 3 h et 6 h, respectivement des baisses de l'ordre de 6,25% ; 9,34% et 9,30% (**Tab. 5**).

Tableau 5 : Pourcentages de réduction de la teneur relative en eau moyenne déterminés à différents temps du traitement par la concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ vis-à-vis du temps référentiel $t = 0$ h, puis entre eux.

$K_2Cr_2O_7$	% de réduction de la teneur relative en eau à différents temps				
	t = 0 h	t = 1 h	t = 3 h	t = 6 h	t = 24 h
t = 0 h	-----	-----	-----	-----	-----
t = 1 h	4,62	-----	-----	-----	-----
t = 3 h	1,37	- 3,41	-----	-----	-----
t = 6 h	1,41	- 3,36	0,04	-----	-----
t = 24 h	10,58	6,25	9,34	9,30	-----

La *TRE* des feuilles donne un aperçu sur la turgescence relative des tissus et figure parmi les critères d'évaluation de la tolérance au stress. La *TRE* est liée à la capacité de la plante à maintenir un niveau d'hydratation des tissus qui soit à même de garantir la continuité du métabolisme (Turner, 1986).

Nos résultats montrent que l'incidence d'une culture hydroponique additionnée d'une concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ fait diminuer par deux fois la *TRE* des deux premières feuilles des plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* (Fig. 23) :

- La première diminution est observée dès le début de l'application de la contrainte imposée par le chrome indépendamment de l'effet de la culture hydroponique, puisque aucune diminution n'est observée chez les témoins entre 0 et 1 h de la culture.
- La seconde diminution est enregistrée au delà de la 6^{ème} heure de la culture, indépendante également de la culture hydroponique, puisque aux mêmes moments, la *TRE* des plants témoins suit un chemin inverse et augmente de niveau.

Entre les deux diminutions enregistrées en terme de *TRE*, il y a lieu de noter que les plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* ont ce pouvoir de stabiliser leur *TRE* entre les temps 1 et 3 h, puis entre les temps de 3 et 6 h. Cette stabilisation est même accompagnée d'un léger regain d'eau, observé notamment à la 3^{ème} h de la culture (Fig. 23). Ce pouvoir de stabilisation de la *TRE*, ainsi que ce léger regain d'eau sont confortés par les pourcentages de réduction de la *TRE* enregistrés durant ces temps, qui affichent des valeurs négatives (Tab. 5).

A titre de comparaison, l'estimation des *TRE* obtenues après des applications en cuivre croissantes [200, 400, 600, 800 et 1000 ppm] sur des plants de *Vicia faba* L. var. *Sidi Aïch* entraînent des réductions au niveau de tous les lots sauf celui traité par la [200 ppm]. Ainsi, les pourcentages de réduction de la *TRE* sont de 5,08% ; 5,65% et 4,73%, respectivement pour les traitements par des concentrations de [400, 600 et 800 ppm]. La concentration la plus élevée [1000 ppm] entraîne la plus faible *TRE* observée (54,88 %) par rapport à celle des témoins (63,97%) (**Cherief & Amrane, 2016**).

La régulation des mouvements de l'eau estimés par l'évolution de la *TRE* est probablement le résultat d'une régulation de l'activité des stomates (**Brunet, 2008**). La fermeture des stomates peut être provoquée par une interaction directe des métaux toxiques avec les cellules de garde et/ou par les effets précoces de la toxicité des métaux sur les racines et les tiges. Ces mécanismes d'ouverture et/ou de fermeture des stomates sont sous le contrôle d'une phytohormone, l'acide abscissique (**Rucinska-Sobkowiak, 2016**).

La fermeture des stomates pour réduire les pertes d'eau, va désavantager en revanche les échanges gazeux avec l'atmosphère, ce qui réduit fortement le processus photosynthétique (**Parys et al. 1998 ; Vassili et al. 1998 In Pourrut, 2008**).

Aussi, les perturbations dans les relations hydriques, peuvent déclencher une régulation différentielle de l'expression de gènes pour la mise en place et le fonctionnement des aquaporines ; des protéines impliquées davantage dans le contrôle des mouvements de l'eau transmembranaires (**Rucinska-Sobkowiak, 2016**).

Afin de maintenir la turgescence des cellules, les plantes déclenchent de multiples mécanismes de tolérance qui contribuent à l'adaptation au stress osmotique induit par les effets des métaux toxiques. Ces mécanismes permettent d'ajuster au mieux la pression osmotique interne grâce aux électrolytes et aux solutés organiques accumulés (**Driouich et al. 2001 In Aoumeur, 2012**).

L'ajustement osmotique est un mécanisme effectif de résistance dans une stratégie de bas potentiel hydrique de la plante. Il assure le maintien de la turgescence par accumulation de solutés dits compatibles, qui n'interfèrent pas avec le métabolisme cellulaire. Ils sont de diverses natures : des sucres, des sucres alcools ou des acides aminés. Parmi les acides aminés, la proline est souvent citée pour son rôle dans ce processus de l'ajustement osmotique (**Szabados & Savouré, 2010 ; Verslues & Sharma, 2010**).

IV.3. Quantité en proline des plants de *Phaseolus vulgaris* L.

La proline est dosée à partir des deux premières feuilles des plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* mis en culture hydroponique en présence d'eau (plants témoins) ou bien soumis à la concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ (plants traités). La cinétique de l'évolution de la quantité en proline a été suivie pendant 1 h, 3 h, 6 h et 24 h. Les deux premières feuilles excisées sont préalablement séchées au four (48 h à 60°C), puis conservées à l'abri de l'humidité avant de les utiliser pour quantifier la proline. La méthode suivie pour quantifier cette proline est celle de **Bates et al. (1973)**.

Avant de passer en mode de culture hydroponique, la quantité initiale en proline a été déterminée au préalable sur les plants qui ont poussés normalement dans leur substrat de culture. Au temps $t = 0$ h, la quantité en proline enregistrée est de $0,72 \pm 0,17$ mg/100 mg de poids sec (**Fig. 24**).

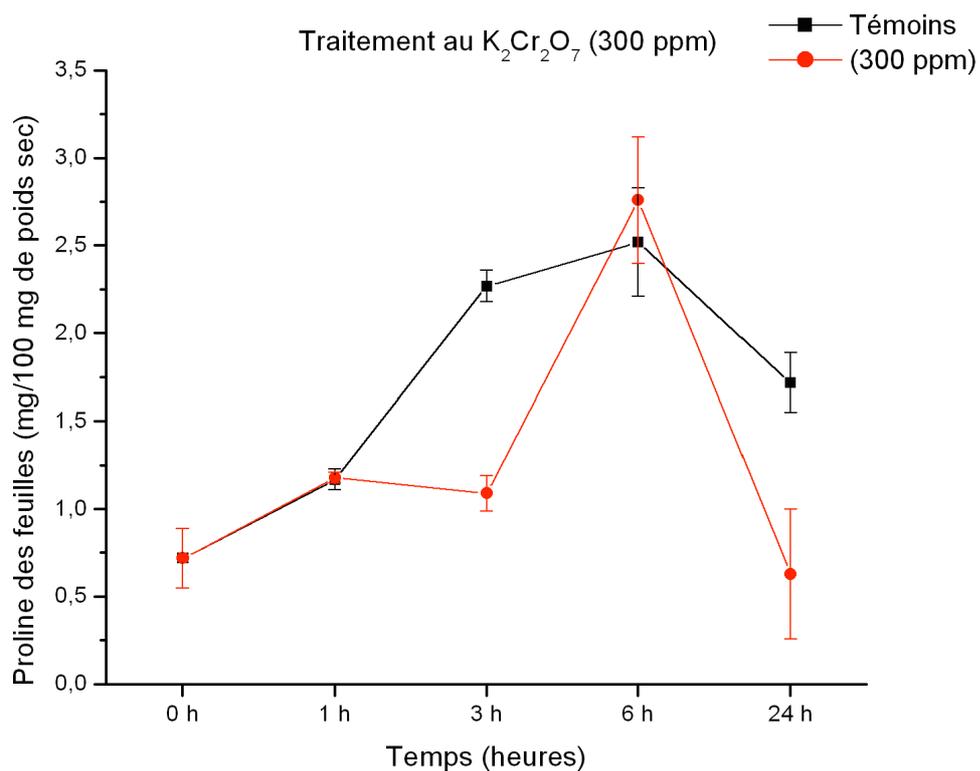


Figure 24 : Evolution de la quantité en proline des deux première feuilles des plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* témoins et traités par une concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction du temps \pm intervalle de confiance.

En passant en mode de culture hydroponique, cette quantité en proline ne fait qu'augmenter notamment à la 1^{ère} ($1,17 \pm 0,06$ mg/100 mg de PS) et à la 3^{ème} h ($2,27 \pm 0,09$ mg/100 mg de PS) au sein des deux premières feuilles des plants non traités par l'élément trace métallique. Sur ces plants, la proline quantifiée à la 6^{ème} h de la culture, atteint sa valeur maximum qui est de $2,52 \pm 0,31$ mg/100 mg de PS, statistiquement proche de celle observée à la 3^{ème} h, en tenant compte de la variation des intervalles de confiance des deux mesures (**Fig. 24**).

Au delà de la 6^{ème} h, la quantité en proline va baisser et atteindre à la 24^{ème} h, la valeur de $1,72 \pm 0,17$ mg/100 mg de PS. Une quantité encore appréciable comparativement à ce qui a été trouvé à $t = 0$ h ($0,72 \pm 0,17$ mg/100 mg de PS) (**Fig. 24**).

Chez les plants traités en culture hydroponique par une concentration en chrome de [300 ppm], on note en terme de quantité en proline, la même évolution que celle constatée pour les plants non traités, est ce à la 1^{ère} h seulement. En effet, la quantité en proline augmente de la même façon et atteint une valeur équivalente, qui est de $1,18 \pm 0,03$ mg/100 mg de PS. Seulement, au lieu de continuer à augmenter comme précédemment, la quantité en proline marque un arrêt entre la 1^{ère} et la 3^{ème} h ($1,09 \pm 0,10$ mg/100 mg de PS) de la culture (**Fig. 24**).

Elle reprend d'une façon remarquable son ascension entre le temps 3 h et 6 h, où l'on note une quantité en proline maximum à 6 h ($2,76 \pm 0,36$ mg/100 mg de PS), avant une chute très importante pour revenir à une valeur en proline de $0,63 \pm 0,37$ mg/100 mg de PS à la 24^{ème} h de la culture ; une quantité très proche de celle enregistrée tout à fait au départ à $t = 0$ h ($0,72 \pm 0,17$ mg/100 mg de PS) (**Fig. 24**).

Si on compare entre l'évolution de la quantité en proline des deux lots témoins et traités, on va constater que (**Tab. 6**) :

- Entre 0 et 1 h, les deux lots convergent vers une élévation de leur quantité en proline et qui se fait dans les mêmes proportions à hauteur de 38%.
- Entre 1 et 3 h, point de divergence entre témoins et traités. Les premiers augmentent fortement leur quantité en proline (48,45%), les seconds marquent un arrêt.
- Entre 3 et 6 h, second point de convergence où les deux lots qui augmentent leur quantité en proline et atteignent leur niveau maximum. Seulement, l'augmentation ne se fait pas dans les mêmes proportions. Les traités par le chrome élèvent leur quantité en proline de 60,50%, les témoins de 9,92% seulement.

- Entre 6 et 24 h, les deux lots diminuent leur quantité en proline, sauf que la diminution constatée chez les traités est plus marquée que chez les témoins.

Tableau 6 : Pourcentages d'élévation ou de réduction de la quantité en proline déterminée chez les plants témoins et chez les plants traités par une concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$ en fonction de différentes amplitudes de temps (0 h – 1 h ; 1 h – 3 h ; 3 h – 6 h et 6 h – 24 h).

Lots	% d'élévation ou de réduction de la quantité en proline			
	0 h – 1 h	1 h – 3 h	3 h – 6 h	6 h – 24 h
Témoins	38,46 %	48,45 %	9,92 %	– 46,51 %
Traités	38,98 %	– 8,25 %	60,50 %	– 338,09 %

La culture en conditions hydroponiques fait augmenter la quantité en proline jusqu'à un certain seuil (6 h). Au delà, la quantité en proline diminue. En traitant les plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* dans les mêmes conditions de culture mais en rajoutant du chrome au milieu, la quantité en proline suit presque le même cheminement que ce qui a été annoncé précédemment sauf en deux points bien distincts :

- Marque un arrêt net entre les temps 1 et 3 h avant d'enchaîner par une forte élévation de la quantité en proline entre 3 et 6 h rattrapant ainsi celle des témoins.
- La diminution constatée entre 6 et 24 h est plus drastique que celle des témoins.

Ces variations sont dépendantes et fortement liées au changement du statut hydrique des feuilles (**Fig. 23**). Ainsi, pour maintenir suffisamment d'eau dans leurs feuilles et éviter son départ précipité, les plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* ont cette faculté d'augmenter rapidement leur quantité en proline, dès la première heure (**Fig. 24**). Ceci est lié aux conditions de la culture hydroponique elle-même source d'un stress, puis au traitement par le chrome pour ce qui est des plants soumis aux effets de l'élément trace métallique.

Lorsque la *TRE* des plants témoins diminue significativement entre la 3^{ème} et la 6^{ème} h de la culture, la réponse se manifeste par une élévation peu marquée de la quantité en proline. Cependant, une quantité en proline présente suffisamment dans le milieu intracellulaire va estomper la diminution de la *TRE* et rehausser même son niveau entre la 6^{ème} et la 24^{ème} h au sein des plants témoins (**Fig. 23 & 24**).

Chez les plants traités par le chrome en conditions de culture hydroponique, nous avons signalé une double baisse de la valeur de la *TRE* : la première se situe entre 0 et 1 h ; la seconde entre 6 et 24 h. Entre les temps 1 et 6 h, nous avons constaté une stabilisation de la valeur de la *TRE* (**Fig. 23**). Les plants y répondent rapidement par une synthèse de la proline pour parer à la perte d'eau constatée dès la 1^{ère} heure, c'est ce qui permet sans doute de stabiliser la quantité d'eau, du moins jusqu'à la 6^{ème} h. Au delà, l'ampleur de la contrainte étant grande, la quantité en proline chute de façon drastique (**Fig. 24**).

Des applications en cuivre croissantes [200, 400, 600, 800 et 1000 ppm] sur des plants de *Vicia faba* L. var. *Sidi Aïch* entraînent des changements des quantités en proline, dépendant de l'intensité du stress appliqué. Les changements les plus significatifs sont enregistrés à partir de la [600 ppm]. Ainsi, les taux d'évolution sont de 17,36% pour [600 ppm] ; 66,98% pour [800 ppm] et 91,84% pour [1000 ppm] (**Cherief & Amrane, 2016**).

L'accumulation de la proline en réponse à un stress est universelle. Dans les feuilles de plants de *Parkinsonia aculeata* L. soumis aux conditions d'un arrêt d'arrosage, la quantité en proline augmente au moment de la diminution de la *TRE*. L'élévation est même régulière et fonction de l'intensité de la contrainte (**Benadjaoud, 2002 ; Benadjaoud & Aïd, 2005**). Un niveau plus élevé en proline libre contribue efficacement au maintien de la turgescence cellulaire, constitue un supplément nutritif et énergétique à la distribution de l'azote et du carbone durant la croissance et le développement des plants après la levée du stress (**Hare et al. 1998**).

Lorsque l'intensité du stress augmente ou bien sa durée est prolongée dans le temps, la quantité en proline diminue et ne permet plus de maintenir l'état de turgescence cellulaire, encore moins la capacité de rétention de l'eau. La chute drastique des quantités en proline enregistrées au moment de l'intensification de la contrainte, va entraîner irrémédiablement une perte de l'ajustement osmotique, rapidement suivie d'une perte d'eau (**Benadjaoud, 2002 ; Benadjaoud & Aïd, 2005**).

V. Conclusion

Sur les plantes, les symptômes de toxicité associés aux éléments traces métalliques sont peu différents de ceux produits par différents types de stress. Leur influence est fonction de leur mobilité à l'interface sol – plante, puis à l'intérieur de l'espèce. C'est cette mobilité qui détermine la concentration endogène d'un élément trace métallique et leurs effets habituels consistent en une réduction de la croissance touchant les différentes parties de la plante (**Shanker et al. 2005**).

Nous avons souhaité suivre la réaction d'une plante comme *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* traitée par un de ces éléments, le chrome utilisé sous forme de $K_2Cr_2O_7$. Un certain stade de son développement a été choisi (stade de développement des deux premières feuilles), et le traitement est alors appliqué en conditions de culture hydroponique en rajoutant une concentration bien définie ([300 ppm]).

Deux paramètres ont été suivis pendant cette étude : la détermination du statut hydrique foliaire depuis les deux premières feuilles, ainsi que la quantification de la proline. Une cinétique d'évolution de ces deux paramètres a été menée pendant différents temps (1, 3, 6 et 24 h) en s'appuyant de **(1)** sur des comparaisons établies d'avec les plants témoins en culture hydroponique sans adjonction de l'élément trace métallique ; et de **(2)** se référer au temps de 0 h, temps correspondant au début de nos manipulations.

Pendant les 6 premières heures, nous ne remarquons aucune différence significative des teneurs en eau entre plants témoins et plants traités par la concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$. Encore plus, nous avons varié la concentration en chrome, en traitant nos plants par 3 autres concentrations ([600, 900 et 1200 ppm]), plus élevées que la première. Aucune différence significative n'est signalée par rapport à l'observation précédente.

Les effets marquants sur la teneur en eau sont enregistrés au delà de la 6^{ème} h. Nous observons, une diminution de la teneur en eau fonction de l'intensité de la contrainte appliquée. Ainsi, plus l'intensité du traitement est élevée plus les pertes d'eau sont grandes.

Si on veut apprécier à sa juste valeur l'état hydrique foliaire d'une plante, il est préférable de considérer plutôt sa teneur relative en eau où l'on prend en compte son pouvoir de turgescence, quelque soit la situation (**Turner, 1986**).

Dés lors, la différence de comportement est plus que évidente entre plants témoins et plants traités par la seule concentration de [300 ppm] en $K_2Cr_2O_7$. Ainsi, chez les plants témoins, si la *TRE* diminue entre la 3^{ème} et la 6^{ème} h ; elle semble s'estomper entre la 6^{ème} et la 24^{ème} h de la culture hydroponique.

Chez les plants traités par le chrome, une double baisse de la *TRE* est observée : la première est assez rapide mais peu consistante observée entre 0 et 1 h ; la seconde est plus drastique au delà de la 6^{ème} h. Entre ces deux amplitudes de temps, la *TRE* est plutôt stabilisée entre 1 et 6 h.

Ces changements de l'état hydrique foliaire sont à corrélérer avec les changements constatés dans le comportement de la proline, un acide aminé impliqué dans l'ajustement osmotique.

Chez les plants témoins, en quantifiant la proline des deux premières feuilles malgré l'absence de l'élément chrome, la seule culture hydroponique est en soit une contrainte, puisque pour ajuster l'état de l'eau qui est susceptible de partir (baisse de la *TRE* enregistrée entre 3 et 6 h), les plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* ont cette capacité de synthétiser de la proline et relativement tôt dans le temps, dès les premières heures de la culture. Cette synthèse rapide permet d'adapter les plants à la culture hydroponique et d'amoindrir son départ, preuve en est que la diminution de la *TRE* s'estompe entre la 6^{ème} et la 24^{ème} h de la culture et augmente même.

Chez les plants traités par le chrome, en plus de la culture hydroponique, le niveau de la proline augmente assez rapidement dès la première heure, tout autant que chez les plants témoins. Cette élévation se fait malgré la légère perte de la *TRE* constatée entre 0 et 1 h.

L'ampleur de la contrainte n'étant pas encore élevée, les plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* ont cette capacité de faire appel à une synthèse *de novo* de la proline pour parer au départ de l'eau. Cette synthèse marque certes un arrêt entre la 1^{ère} et la 3^{ème} h de la culture, mais reprend de façon extraordinaire les heures suivantes, c'est ce qui explique sans doute la stabilité de la *TRE* constatée entre 1 et 6 h de la culture.

Une synthèse *de novo* de la proline en réponse au stress est universelle. Elle contribue efficacement au maintien de la turgescence cellulaire par ce pouvoir de l'ajustement osmotique, comme elle permet de protéger les complexes protéiques et les structures membranaires (Hare *et al.* 1998).

Conclusion

Une diminution plus drastique de la *TRE* entraîne une diminution brutale de la proline. L'ampleur de la diminution des quantités en proline des plants traités n'est pas de même ordre que ce qui a été observé chez les plants témoins. Ceci explique que le stress induit par le chrome, ne peut être supporté au delà d'un certain seuil et ses effets sont marqués après un certain temps. Avec des quantités plus faibles en proline, l'ajustement osmotique ne peut plus être assuré et les pertes d'eau seront indéniablement importantes.

Références bibliographiques

Allario T. (2009). Identification de déterminants physiologiques et moléculaires de la tolérance à la contrainte saline et au déficit hydrique de porte-greffes autotétraploïdes d'agrumes. *Thèse de Doctorat. Université de Corse*. 335 pp.

Angiosperm Phylogeny Group AGP. (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *APG II Botanical Journal of the Linnean Society* 141, 399-436.

Aoumeur H. (2012). L'effet stressant du plomb sur la croissance du radis '*Raphanus sativus* L.' Réponses physiologiques, biochimiques et efficacité potentielle de phytoremédiation. *Mémoire de Magister. Université d'Oran Es-Senia*. 153 pp.

Aziri S. (2018). Utilisation des déchets agro-industriels pour l'élimination du chrome hexavalent en solution aqueuse. *Thèse de Doctorat. Université M. Mammeri de Tizi-Ouzou*.

Bates L.S., Waldren R.P. & Teare I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39(1), 205-207.

Benadjaoud A. (2002). Effets de la déshydratation et de la réhydratation sur le métabolisme cellulaire de jeunes plantules de *Parkinsonia aculeata* L. : Aspects physiologiques. *Thèse de Magister. Université H. Boumedienne de Bab-Ezzouar*. 93 pp.

Benadjaoud A. & Aïd F. (2005). Impacts de la déshydratation et de la réhydratation sur le métabolisme cellulaire des plants de *Parkinsonia aculeata* L. *Annales de l'Institut National Agronomique El Harrach* 26, 1-14.

Benazzouze H. (2016). L'extraction liquide-solide du mélange chrome (III) et fer (III) par la résine CHELEX 100. *Mémoire de Master. Université A.B. Belkaid de Tlemcen*. 80 pp.

Bennabi F. (2017). Les marqueurs biochimiques de la résistance à la salinité chez *Phaseolus vulgaris* L. *Thèse de Doctorat. Université A. Ben Bella d'Oran*. 143 pp.

Ben Redjeb K., Abdelly C., Savouré A. (2012). La proline, un acide aminé multifonctionnel impliqué dans l'adaptation des plantes aux contraintes environnementales. *Biologie Aujourd'hui* 206, 291-299.

Références bibliographiques

Ben Yahmed J. (2013). Etude des propriétés de tolérance au déficit hydrique et au stress salin de géotypes appartenant au genre *Poncirus* et au groupe des mandariniers. *Thèse de Doctorat. Centre International d'Etudes Supérieures en Sciences Agronomiques Montpellier*. 210 pp.

Biteur N. (2012). Essais d'utilisation du radis (*Raphanus sativus*) dans la phytoremédiation (biodépollution) au niveau du sol contaminé par les métaux lourds (plomb) : Etude du stress oxydatif et quelques paramètres enzymatiques. *Thèse de Doctorat. Université Oran I*. 110 pp.

Bouzid S. (2017). Etude de l'effet de l'interaction du molybdène avec l'azote chez les fabacées cultivées en milieu salin. *Thèse de Doctorat. Université Frères Mentouri de Constantine*. 240 pp.

Brunet J. (2008). Adaptation aux métaux lourds d'une fabacée (légumineuse) : réponses phénologiques et moléculaire au plomb du *Lathyrus sativus* L. *Thèse de Doctorat. Université Paris Est*. 246 pp.

Chaumeil P. (2006). Plasticité moléculaire de deux écotypes de pin maritime soumis à un stress osmotique. *Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré Nancy I*. 264 pp.

Cherief I. & Amrane F. (2016). Effet du cuivre sur les paramètres physiologiques et morphologiques chez la fève (*Vicia faba* L.). *Mémoire de Master. Université A. Ibn Badis Mostaganem*. 72 pp.

Chiffolleau J.F. (1994). Le chrome en milieu marin. *IFREMER* <http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/1430/>. 49 pp.

Delauney A.J. & Verma D.P.S. (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant Journal* 4, 215-223.

Desjardin V. (2002). Réduction du chrome (VI) par la souche *Streptomyces thermocarboxydus* NH50 isolée à partir d'un sol pollué. *Thèse de Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon*. 247 pp.

Djouadi H. & Hallalib R. (2018). Contribution à l'étude de l'effet de la salinité sur le comportement écophysologique et biochimique de quelques variétés de l'espèce

Références bibliographiques

d'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.). *Mémoire de Master. Université D. Bounaama de Khemis Miliana*. 57 pp.

Doyle J.J. & Luckow M.A. (2003). The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiology* 131, 900-910.

Fabro G., Kovacs I., Pavet V., Szabados L. & Alvarez M.E. (2004). Proline accumulation and *atP5CS2* gene activation are induced by plant-pathogen incompatible interactions in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interaction* 17, 343-350.

Gasté H., Basly J.Ph., Botineau M. & Verger J.P. (2005). Bioaccumulation du chrome et du nickel par *Cladonia portentosa*, *Hedwigia ciliata*, *Armeria arenaria* et *Festuca lemanii* en milieu serpentinique (Lande du Cluzeau, Haute-Vienne). *Annales Scientifiques du Limousin*. 55 pp.

Hare P.D., Cress W.A. & Van Staden J. (1998). Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, Cell and Environment* 21, 535-553.

Heuer B. (2010). Role of proline in plant response to drought and salinity. *Handbook of Plant and Crop Stress CRC press, Boca Raton*, 213-238.

Ladigues P.V. (1975). Some aspects of tissue water relations in three populations of *Eucalyptus viminalis* Labill. *New Phytol* 69, 501-513.

Maougal R.T. (2014). Contribution des phytases bactériennes à l'adaptation de *Phaseolus vulgaris* à la faible disponibilité de phosphore en sols méditerranéens. *Thèse de Doctorat en Cotutelle. Centre International d'Etudes Supérieures en Sciences Agronomiques Montpellier et Université Constantine I*. 114 pp.

Missihoun A.A., Milognon H.W., Montcho D., Agbo R.I., Sedah P. & Agbangla C. (2017). Diversité variétale et gestion paysanne des haricots cultivés du genre *Phaseolus* cultivés au centre et au Sud Bénin (en Afrique de l'Ouest). *Journal of Applied Biosciences* 118, 11817-11828.

Mohan D. & Pittman C.U. (2006). Activated carbons and low cost adsorbents for remediation of tri- and hexavalent chromium from water. *Hazardous Materials* 137, 762-811.

Références bibliographiques

Mokrani M. (2014). Détermination du niveau de contamination par les métaux lourds dans les poissons d'importation cas de la crevette et filet de merlan. *Mémoire de Master. Université de Tlemcen.* 45 pp.

Monneveux P. (1991). Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales? *In : L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. AUPELF-UREF John Libbey Eurotext Paris.* 165-186.

Nies D.H. (1999). Microbial heavy-metal resistance. *Applied Microbiology and Biotechnology* 51, 730-750.

Ouis M. (2008). Polymorphisme protéique chez *Atriplex halimus* L. sous régime salin et de déficit hydrique. *Mémoire de Magister Université Es Sénia d'Oran.* 93 pp.

Parys E., Romanowska E., Siedlecka M., Poskuta J. (1998). The effect of lead on photosynthesis and respiration in detached leaves and in mesophyll protoplasts of *Pisum sativum*. *Acta Physiologiae Plantarum* 20, 313-322.

Pourrut B. (2008). Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. *Thèse de Doctorat. Université P. Sabatier de Toulouse.* 297 pp.

Rucinska-Sobkowiak R. (2016). Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. *Acta Physiologiae Plantarum* 38, 256-268.

Shadreck I. (2013). Chromium, an essential nutrient and pollutant: a review. *African J. Pure Appl. Chem.* 7, 310-317.

Shanker A.K., Cervantes C., Loza-Tavera H. & Avudainayagam S. (2005). Chromium toxicity in plants. *Environment International* 31(5), 739-753.

Sharma S.S. & Dietz K.J. (2009). The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. *Trends in Plant Science* 14, 43-50.

Szabados L. & Savouré A. (2010). Proline a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science* 15, 89-97.

Thevenot D., Lestel L., Tusseau-Vuillemin M.H., Gonzales J.L. & Meybeck M. (2009). Les métaux dans le bassin de la Seine – comprendre d'où proviennent et comment

Références bibliographiques

circulent les métaux dans un bassin versant fortement exposé aux pressions humaines. *Collection du programme PIREN-Seine*, 978-2-918251-06-04. 60 pp.

Toundou O. (2016). Evaluation des caractéristiques chimiques et agronomiques de cinq composts de déchets et étude de leurs effets sur les propriétés chimiques du sol, la physiologie et le rendement du maïs (*Zea mays* L. var. *Ikenne*) et de la tomate (*Lycopersicum esculentum* L. var. *Tropimech*) sous deux régimes hydriques au Togo. *Thèse de Doctorat. Université de Lomé*. 214 pp.

Tournier P.H. (2015). Absorption de l'eau et des nutriments par les racines des plantes : modélisation, analyse et simulation. *Thèse de Doctorat. Université Pierre et Marie Curie Paris VI*. 109 pp.

Troll W. & Lindsley J. (1955). A photometric method for the determination of proline. *J. Biol. Chem.* 215, 655-660.

Turner N.C. (1986). Crop water deficits: A decade of progress. *Advances in Agronomy* 39, 1-51.

Verslues P.E., Agarwal M., Katiyar-Agarwal S., Zhu J.H. & Zhu J.K. (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *Plant Journal* 45, 523-539.

Verslues P.E. & Sharma S. (2010). Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. *Arabidopsis Book / American Society of Plant Biologists*, 01-23.

Zorrig W. (2011). Recherche et caractérisation de déterminants contrôlant l'accumulation de cadmium chez la laitue '*Lactuca sativa*'. *Thèse de Doctorat. SupAgro Montpellier – Faculté des Sciences de Tunis*.

Résumé

On a voulu évaluer les réponses de plants de *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* vis-à-vis d'une contrainte imposée en conditions de culture hydroponique par le chrome, qui a été rajouté au milieu sous forme de $K_2Cr_2O_7$ à une concentration de [300 ppm]. Le statut hydrique, ainsi que la quantité en proline des deux premières feuilles ont été suivis pendant toute une journée, à des temps variables (1, 3, 6 et 24 h).

Nos résultats montrent que la teneur en eau ne varie pas pendant les 6 premières heures de la contrainte ; elle décline substantiellement lorsque la contrainte est prolongée jusqu'à 24 h. La teneur relative en eau diminue par deux fois : une première fois dès l'imposition de la double contrainte (culture hydroponique + application du chrome) ; une seconde fois après la 6^{ème} h. La première diminution est de loin moins marquée que la seconde, qui est plus drastique. Entre les temps intermédiaires de 1 h à 6 h, la teneur relative en eau est stable et varie peu.

En réponse à la diminution de la teneur relative en eau constatée dès la 1^{ère} heure, nos plants élèvent leur teneur en proline assez rapidement. C'est ce qui assure le maintien de l'état hydrique des feuilles plus ou moins stable pendant les 6 premières heures. La contrainte prolongée dans le temps, fait diminuer de façon drastique la quantité en proline ; c'est ce qui se répercute sur un départ plus abondant de l'eau.

Mots clés : *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* ; culture hydroponique ; chrome ; teneur en eau ; teneur relative en eau ; proline.

Abstract

We wanted to evaluate the responses of plants of *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida* with respect to a constraint imposed under conditions of hydroponic culture by chromium, which was added to the medium in the form of $K_2Cr_2O_7$ at a concentration of [300ppm]

The water status as well as the amount of proline in the first two leaves was monitored for a whole day, at varying times (1, 3, 6 and 24 h).

Our results show that the water content does not vary during the first 6 hours of stress; it declines substantially when the stress is extended to 24 h. The relative water content decreases twice: once before the imposition of the double stress (hydroponics + application of chromium); a second time after the 6th h. The first decrease is far less marked than the second, which is more drastic. Between the intermediate times of 1 to 6 hours, the relative water content is stable and varies little.

In response to the decrease in the relative water content of the first hour, our plants raise their proline content quite rapidly. This is what ensures the maintenance of the hydric state of the leaves more or less stable during the first 6 hours. The prolonged constraint in time drastically reduces the quantity of proline; this is reflected in a more abundant flow of water.

Key words: *Phaseolus vulgaris* L. var. *El-Djadida*; hydroponic culture; chrome; water content; relative water content; proline.