

# L'absorption de Cd par différentes variétés de lupins (*Lupinus albus* et *Lupinus angustifolius*) comparée à celle du ray-grass (*Lolium multiflorum*) en fonction de la fertilisation phosphatée

Wilhelm RÖMER\*, Komi EGLE, Dong-Kyo KANG, Holger KELLER, Jörg GERKE

Institut für Agrikulturchemie, Universität Göttingen, Von Siebold-Straße 6, 37075 Göttingen, Allemagne

(Reçu le 14 septembre 2000 ; révisé le 31 janvier 2001 ; accepté le 29 décembre 2001)

**Abstract – Cd-uptake of different *Lupinus albus* and *Lupinus angustifolius* cultivars compared with *Lolium multiflorum* at varied P supply.** The objective of the pot experiments was to study the mobilisation and the uptake of Cd by three plant species (two dicotyledons : *L. albus* L. and *L. angustifolius* L. compared to a monocotyledon *Lolium multiflorum* Lam.) at varied P supply. Four experiments were done either in a growth chamber or in a greenhouse. The treatments were: the three plant species, 2 levels of phosphorus nutrition and 2 soil types. Independent of the P supply, Cd concentration in the shoot dry matter showed the following order : *Lolium multiflorum* > *L. angustifolius* > *L. albus*. The Cd content in the shoots corresponded firstly to the root/shoot ratio and secondly to the Cd inflow rate as well as to the proportion which was taken up and translocated into the shoot. The differences in the behaviour of the three plant species were probably connected with the exudation of organic acids in the soil. In a separate experiment, lupins showed excretion rates of citrate, malate, succinate and other organic acids, which were ten times higher than that of *Lolium multiflorum*. Without P supply, the exudation rates were even higher. In the acid sandy soil, the citric acid excretion leads to a decrease of Cd concentration in the soil solution. In the soil solution of the calcareous loam soil, the Cd concentration was increased under lupins but not under *Lolium multiflorum* compared to pots without plants. We assume that the higher Cd concentration in the soil solution under lupins originated from Cd complexation by the excreted acids. But Cd uptake from these complexes was probably hindered, because less Cd was taken up and translocated to the shoots. We concluded that the higher excretion of organic acids into the rhizosphere by lupins in comparison to ryegrass (*Lolium multiflorum*) seems to modify the Cd speciation in the soil solution. The consequence was a lower Cd uptake by the plants from the acid as well as the calcareous soil.

Cd / exudation / lupin / organic acids / ray-grass / uptake

---

Communiqué par Gérard Guyot (Avignon, France)

\* Correspondance et tirés-à-part  
kegle@gwdg.de (ou) uaac@gwdg.de

**Résumé**— L'objectif de cette expérimentation est d'étudier la mobilisation et l'absorption du Cd du sol par différentes variétés de 2 espèces de dicotylédones (*Lupinus albus* et *Lupinus angustifolius*) comparées à une monocotylédone (*Lolium multiflorum*) en fonction de la nutrition phosphatée. Les facteurs étudiés sont les 3 espèces de plante, la nutrition phosphatée et le type de sol. Les résultats ont montré que la matière sèche aérienne de *Lolium multiflorum* présente une teneur en Cd nettement supérieure à celle des 2 espèces de *Lupinus* indépendamment de l'apport phosphaté et du type de sol. Cette teneur élevée en Cd chez *Lolium* est en relation d'une part avec le rapport élevé de la longueur de ses racines sur la quantité de matière sèche aérienne produite et d'autre part avec le transport du Cd absorbé par ses racines vers la biomasse aérienne. Les 2 espèces de *Lupinus* ont montré une exsudation d'acides organiques (citrate, acide malique, succinate...) environ 10 fois supérieure à celle de *Lolium*. La nutrition phosphatée a une influence inhibitrice sur l'exsudation racinaire d'acides organiques. Cette excrétion d'acides organiques dans la rhizosphère entraîne sur sol acide une diminution de la teneur en Cd de la solution du sol et par conséquent un faible prélèvement par les plantes. En revanche, sur sol basique, la teneur en Cd de la solution du sol augmente sous l'effet de la culture de *Lupinus* suite probablement à la formation de complexe du citrate de Cd. Mais le prélèvement du Cd par les racines sous forme de complexe organométallique n'est pas non plus facilement réalisable que celui des ions libres  $Cd^{2+}$ . De cette étude, il ressort que les 2 espèces de dicotylédones (*L. albus* et *L. angustifolius*) modifient le potentiel d'adsorption et la spéciation du Cd grâce à leur capacité d'exsudation élevée d'acides organiques en comparaison avec *Lolium multiflorum*.

**absorption / acides organiques / Cd / exsudation / lupins / ray-grass**

## 1. INTRODUCTION

Au cours d'une étude faite sur l'absorption de phosphore par les racines des plantes, Römer et Gerke [27] ont constaté que sur un sol faiblement pourvu en P, *Lupinus albus* L. prélevait plus de P que *Zea mays* L. L'apport phosphaté entraînait une augmentation non significative de la matière sèche végétative chez *L. albus* mais significative chez *Zea mays*. De ces expériences, ils concluaient que *L. albus* est plus efficace dans l'absorption du P que *Zea mays* grâce à sa capacité de prélèvement du P sur sol moins riche en cet élément. Ce phénomène s'explique par la capacité de *L. albus* à former des racines protéoïdes (cluster roots) présentant une forte densité de ramifications et de nombreux poils racinaires capables de prélever le P du sol. Ces racines protéoïdes ont la particularité de se former en réponse à une carence en P de la plante, i.e. à de faibles concentrations en P dans la solution du sol [14]. Elles excrètent des exsudats notamment des acides organiques tels que citrate, malate et autres [14, 27]. Ces acides organiques augmentent la solubilisation du P fixé et donc sa disponibilité et par conséquent son absorption par les racines [8, 13, 17]. Dinkelaker et al. [4] ont constaté une augmentation significative des concentrations en Fe, Mn et Zn extractibles par DTPA à proximité des racines protéoïdes de *L. albus* cultivé en sol calcaire. Gerke et al. [8] ont montré qu'en dehors de la solubilisation du P fixé, la concentration du fer (Fe) et celle de l'aluminium (Al) ont été augmentées dans la solution du sol de la rhizosphère protéoïdique. Cette solubilisation s'explique indubitablement par la constante de

stabilité élevée des complexes que forment ces éléments avec le citrate ou le malate [18]. La forte solubilisation de métaux lourds dans la rhizosphère entraîne leur diffusion plus rapide vers les racines [12] et par suite leur absorption élevée par ces dernières : c'est le cas du Cd chez *Nicotiana* [20]. Mais la formation de complexes organométalliques n'est toutefois pas une garantie pour une éventuelle absorption par la plante. La complexation d' $Al^{3+}$  par le citrate excrété par les racines est considérée comme un mécanisme de protection des plantes contre la toxicité en aluminium du sol [21, 26]. Par conséquent, pour des sols riches en  $Al^{3+}$ , il s'avère indispensable sur le plan génétique d'améliorer des espèces ou variétés de plante capables d'excréter des exsudats racinaires. En outre, l'addition d'acides organiques au sol augmente la solubilité d'autres cations métalliques tels que le Cu, le Zn et le Cd [15].

L'analyse de la solubilisation du Cd du sol par 9 différents acides organiques montre que le citrate est l'anion le plus efficace [23]. Il est donc probable que dans la rhizosphère des racines protéoïdes, l'exsudation de citrate s'accompagnerait d'une solubilisation de Cd dans la rhizosphère. Cependant, on ignore si ce phénomène entraînerait particulièrement une augmentation de l'absorption du Cd par les racines. Ceci requiert de nouvelles investigations. C'est donc l'objectif de ce travail qui consiste à :

- étudier la variabilité de l'absorption du Cd de dix variétés de *L. albus* et de deux variétés de *L. angustifolius* L. en comparaison à celle d'une monocotylédone *Lolium multiflorum* Lam. Le choix de ces 3 espèces se justifie par le fait que *L. angustifolius* contrairement à

*L. albus* ne forme pas de racines protéoïdes [5] et *Lolium multiflorum* est connu comme espèce excréant moins d'acides organiques racinaires [9],

- étudier l'influence de la nutrition phosphatée sur l'exsudation racinaire et son éventuelle influence sur la solubilité du Cd dans la solution du sol ; étant donné que la réaction physiologique de *L. albus* sur sol moins pourvu en P est considérée comme un modèle d'adaptation des plantes en matière de mobilisation chimique de substances nutritives [24]. Pour cette raison, des sols faiblement pourvus en phosphate sont utilisés dans cette étude en vue d'analyser les effets de l'apport phosphaté sur l'exsudation racinaire.

## 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 2.1. Expériences 1 et 2 : étude comparative de l'absorption du Cd par *L. albus*, *L. angustifolius* et *Lolium multiflorum*

Le tableau I présente la liste des espèces et variétés utilisées. Le sol utilisé est un sol humique sableux de Hodenhagen (Tab. II). Deux semaines avant le semis, le Cd est appliqué sous forme de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  à raison de  $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Le sol est tamisé à l'aide d'un tamis de 2 mm, pesé puis homogénéisé après addition de la solution minérale. Les plantes sont cultivées dans des pots en plastique noir de 0,9 litre et remplis avec 700 g de sol. Chaque traitement présente 4 répétitions. Pour la culture du ray-grass, 150 mg N par pot sont appliqués sous forme de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ . Les graines des lupins sont prégermées et les radicules sont inoculées avec *Bradyrhizobium lupinum* (Jost Ltd., Iserlohn, Allemagne) ensuite transplantés à raison de six plantules par pot. Dans le cas du ray-grass, 150 mg de graines par pot de culture sont semées. Il est à noter que l'objectif de ces expériences était de faire une étude comparative de l'absorption du Cd par les différentes espèces et variétés utilisées.

**Tableau I.** Liste des espèces et variétés utilisées.

Espèces	Nr.	Variétés	Pays d'origine
<i>Lupinus albus</i> L.			
	1	Amiga	Chili
	2	Ares	France
	3	Borki	Allemagne
	4	Lublanc	France
	5	Lutop	France
	6	Minori	Allemagne
	7	Nelly	Hongrie
	8	Vladimir	Ukraine
	9	Feli	Allemagne
	10	Weibit	Allemagne
<i>L. angustifolius</i> L.			
	11	Bordako	Allemagne
	12	Borweta	Allemagne
<i>Lolium multiflorum</i> Lam.			
	13	Lirasand	Allemagne

**Particularités de l'expérience 1 :** Au cours de cette expérience, les plantes sont cultivées en serre en conditions climatiques naturelles d'été (juillet-août) pendant 35 jours de végétation. Dans cette expérience, le phosphore n'est pas apporté.

**Particularités de l'expérience 2 :** Pour l'expérience 2, les plantes sont cultivées pendant 44 jours en conditions climatiques contrôlées : rythme de jour/nuit : 14/10 h ; température : 21/16 °C ; humidité relative de l'air : 70 %, éclairage :  $240 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Dans cette expérience, le sol a été enrichi en P à raison de 60 mg de  $\text{P} \cdot \text{kg}^{-1}$  de sol.

Dans les 2 expériences, un arrosage régulier permet de maintenir la teneur en eau du sol à 70 % de la capacité maximale de rétention d'eau. A la coupe des plantes, le poids sec de la biomasse est déterminé après séchage à

**Tableau II.** Caractéristiques des sols utilisés.

	argile %	limon %	sable %	$\text{CaCO}_3$ %	pH $\text{CaCl}_2$	Corg %	$\text{P}_2\text{O}_5\text{-CAL}^1$ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Cd-total $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
Hodenhagen	3	6	91	0	5,2	3,2	8	0,40
Elliehausen	16	75	9	9	7,7	0,3	1,4	0,01

<sup>1</sup> Extraction par le lactate acetate de calcium.

105 °C pendant 24 heures. Un échantillon de 0,2 g de poudre végétale est minéralisé dans 4 ml d'acide nitrique concentré (65 %) sous pression à 175 °C pendant 12 heures. La teneur en Cd est ensuite mesurée dans la solution par absorption atomique. La méthode de déplacement de Adams [1] est utilisée pour recueillir la solution du sol dans laquelle sont déterminés le pH et la concentration en Cd. Cette méthode consiste à remplir les tubes cylindriques de 250 ml des racines avec du sol humide y adhérant (rhizosphère). Ensuite la solution du sol est déplacée par des gouttes d'eau déposées sur le sol au-dessus du tube. Elle est recueillie à travers une petite ouverture faite à la partie inférieure du cylindre.

### 2.2. Expérience 3 : étude comparative du prélèvement de Cd par *L. albus*, *L. angustifolius* et *Lolium multiflorum* en fonction de l'apport phosphaté

Pour cette expérience, le substrat de culture utilisé est composé d'un mélange de 2,5 kg de sol calcaire extrêmement pauvre en P de Elliehausen (Tab. II) et de 0,5 kg de sable par pot. Avant le semis, chaque pot est amendé avec 1,5 mg de Cd (sous forme de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ) et 60 mg de K (sous forme de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) par kg de substrat. Deux niveaux de fertilisation phosphatée sont étudiés : - P (33 mg  $\text{P}\cdot\text{kg}^{-1}$  substrat) et + P (333 mg  $\text{P}\cdot\text{kg}^{-1}$  substrat). Le phosphore est apporté sous forme de  $\text{CaHPO}_4$ . En plus du P, 133 mg de N sous forme de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  par kg de substrat sont ajoutés uniquement pour *Lolium*. Les graines de *Lupinus* sont inoculées avec *Bradyrhizobium lupinum* (Jost Ltd., Iserlohn, Allemagne) avant le semis. Le nombre de plantes par pot est de 12 pour les espèces de *Lupinus* et 200 mg de semences sont semées pour *Lolium*. Les conditions climatiques de cette expérience sont les mêmes que celles de l'expérience 2. Deux récoltes sont effectuées respectivement au 13<sup>e</sup> et 25<sup>e</sup> jours après le semis. Le nombre de répétitions était de 2 pour la 1<sup>re</sup> récolte et de 4 pour la 2<sup>e</sup> récolte. A chacune de ces récoltes, les parties aériennes sont séparées des racines, séchées à 105 °C pendant 24 heures dans une étuve et ensuite pesées. L'analyse chimique de la biomasse aérienne, l'obtention de la solution du sol et la détermination de sa concentration en Cd sont réalisées conformément aux méthodes décrites dans les expériences 1 et 2. Les racines de chaque pot sont lavées puis la longueur est déterminée par la méthode de Newmann [25]. Tout comme la biomasse aérienne, la concentration de Cd est analysée dans la solution minéralisée des racines. L'absorption nette du Cd par unité de longueur de racine et unité de temps

( $\text{mol}\cdot\text{Cd}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ) est calculée selon la méthode de Williams [33]. Les paramètres utilisés sont : les concentrations de Cd soit dans la biomasse totale ou soit uniquement dans matière sèche aérienne, les longueurs de racines, la quantité de matière sèche produite et le temps séparant les 2 coupes.

### 2.3. Expérience 4 : étude comparative de l'excrétion d'exsudats par les racines de *L. albus*, de *L. angustifolius* et de *Lolium multiflorum* en fonction de la nutrition phosphatée

Le substrat utilisé dans cette expérience est le sable de quartz. Les conditions climatiques de culture sont les mêmes que celles de l'expérience 2. Les plantes sont cultivées pendant 21 jours dans des pots en plastique de 4 litres remplis de 4 kg de sable auxquels ont été appliqués 150 mg de N sous forme de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2, 4\text{H}_2\text{O}$  ; 259 mg de K sous forme de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  ; 30 mg de Mg sous forme de  $\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$  ; des micro-éléments d'après la composition de Hoagland [29] et du fer (Fe) sous forme de Fe-EDDHA. Deux niveaux de fertilisation phosphatée sont étudiés : P-0 (sans fertilisation phosphatée) et P-12 (12 mg de P) pour les lupins. Dans le cas du ray-grass P-6 et P-36 représentent respectivement 6 et 36 mg de P par pot. Le phosphore est apporté sous forme de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ . La quantité plus élevée de phosphore apporté dans les pots du ray-grass se justifie par la faible quantité de réserves nutritives en l'occurrence du P dont disposent ses semences par rapport à celles des lupins. Au cours de l'expérience, un arrosage régulier permet de maintenir la teneur en eau à 70 % de la capacité de rétention d'eau du sable. Après 3 semaines de culture, le système racinaire est récupéré par lavage à l'eau puis plongé dans une solution de  $\text{CaCl}_2$  (0,05 mmol) pendant 1 heure afin d'éliminer les premières excréctions racinaires pouvant provenir d'éventuelles blessures des racines au cours du lavage. Les racines sont ensuite transférées dans une nouvelle solution de  $\text{CaCl}_2$  pendant 4 heures pour recueillir les acides organiques excrétés. Cette dernière solution est alors concentrée à l'aide de la méthode décrite par Gerke et al. [8]. Ce concentré est analysé par chromatographie liquide (HPLC - High Performance Liquid Chromatography) [15]. La longueur des racines est déterminée par la méthode de Newman [25]. L'exsudation nette par unité de longueur de racine et par unité de temps ( $\text{mol}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ) est calculée.

## 2.4. L'analyse statistique

L'analyse de variance des données est réalisée à l'aide du programme Feversat de l'université de Halle (Allemagne).

## 3. RÉSULTATS

### 3.1. Production de biomasse et concentration du Cd dans la plante

#### 3.1.1. Expériences 1 et 2

Sous cette rubrique, nous faisons une analyse de la variabilité entre les variétés et espèces indépendamment

des conditions climatiques de culture et de la nutrition phosphatée.

Aussi bien dans les conditions de l'expérience 1 que dans celles de l'expérience 2, la matière sèche aérienne produite varie en fonction des espèces (Tab. III). En moyenne, le rendement en matière sèche aérienne des variétés de *L. albus* représente pratiquement le double de celui des variétés de *L. angustifolius* et le triple de celui du ray-grass. Il faut noter que, dans ces expériences d'assez courte durée (35 et 44 jours), le poids élevé de mille grains de *L. albus* (environ 300 g) par rapport à celui de *L. angustifolius* (environ 100 g) a pu favoriser l'élaboration rapide de la biomasse car les plantules de *L. albus* disposaient plus de réserves nutritives dans les cotylédons. Des racines protéoides ont été observées seulement chez *L. albus*.

**Tableau III.** Matière sèche aérienne (MSA), concentration de Cd dans la biomasse aérienne (Cd MSA) et dans les racines (Cd MSR) et proportion relative de Cd dans les parties aériennes en fonction des espèces étudiées (expériences 1 et 2).

Espèces	Expérience 1				Expérience 2			
	MSA (g par pot)	Cd MSA (mg·kg <sup>-1</sup> )	Cd MSR (mg·kg <sup>-1</sup> )	Proportion de Cd dans la MSA (%)	MSA (g par pot)	Cd MSA (mg·kg <sup>-1</sup> )	Conc. Cd MSR (mg·kg <sup>-1</sup> )	Proportion de Cd dans la MSA (%)
<i>L. albus</i>								
1	3,0 abc	0,61 a	22 ab	7	4,5 bc	0,61 ab	21 ab	6
2	2,9 bc	0,45 bcd	20 ab	6	5,2 abc	0,54 abc	24 a	5
3	3,0 abc	0,46 bcd	22 ab	5	4,5 bc	0,53 abc	21 ab	5
4	3,0 abc	0,48 bcd	21 ab	6	4,4 c	0,52 abc	20 b	6
5	3,2 ab	0,38 d	18 bc	6	4,7 bc	0,38 cd	19 b	5
6	2,9 bc	0,53 abc	15 c	9	4,8 abc	0,63 a	19 b	8
7	3,0 a	0,40 d	18 bc	6	5,6 ab	0,32 d	18 b	4
8	3,1 abc	0,55 ab	19 bc	7	5,1 abc	0,61 ab	22 ab	7
9	2,6 c	0,42 cd	26 a	4	4,3 c	0,48 abcd	21 a	4
10	3,3 ab	0,40 d	20 bc	5	5,8 a	0,45 bcd	20 b	6
Moyenne	3,0 A	0,47 C	20 B	6	4,9 A	0,51 B	21 A	6
<i>L. angustifolius</i>								
11	1,8	2,15	10	29	3,0	3,54	10	35
10	1,5	2,37	8	31	3,2	4,07	12	36
Moyenne	1,7 B	2,26 B	9 C	30	3,1 B	3,80 A	11 B	36
<i>Lolium multiflorum</i>								
13	0,8 C	5,62 A	29 A	24	1,8 C	4,42 A	22 A	28

Dans chaque colonne, les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes pour  $P = 0,05$  ; test statistique montrant la différence variétale chez *L. albus*.

Contrairement au rendement en matière sèche aérienne, le ray-grass présente une teneur en Cd 10 fois supérieure à celle de *L. albus*. Chez *L. angustifolius* les concentrations sont de 5 à 6 fois supérieures à celles de *L. albus*. Les teneurs en Cd des racines sont largement plus fortes pour toutes les espèces utilisées en comparaison aux concentrations dans les parties aériennes. Elles sont respectivement 3, 5 et 40 fois supérieures chez *L. angustifolius*, *Lolium multiflorum* et *L. albus*. Ces différences en teneur en Cd entre les espèces sont également indépendantes des conditions climatiques de culture et de l'apport phosphaté. Sur la base de la quantité totale de Cd absorbée par la plante, la proportion de Cd dans les parties aériennes représente en moyenne 6 %, 29 à 36 % et 24 à 28 % respectivement chez *L. albus*, *L. angustifolius* et *Lolium multiflorum*. De ces valeurs, il s'ensuit que la proportion du Cd absorbé par les racines et qui est transféré vers les parties aériennes est plus élevée chez *L. angustifolius* et *Lolium multiflorum* que chez *L. albus*.

### 3.1.2. Expérience 3

L'apport du P n'induit aucune augmentation significative de la biomasse aérienne après 25 jours de

végétation chez les lupins (Tab. IV). En revanche, chez *Lolium multiflorum*, cet apport s'accompagne d'une augmentation significative de 30 % de la biomasse.

Chez *Lupinus angustifolius* et *Lolium multiflorum*, l'apport phosphaté s'accompagne d'une réduction significative de la concentration du Cd dans la matière sèche aérienne. Cependant, chez *Lupinus albus*, cet apport ne montre aucune influence significative sur la teneur en Cd dans la matière sèche aérienne. *L. angustifolius* et *Lolium multiflorum* présentent respectivement des teneurs en Cd 6 et 20 fois supérieures à celles de *L. albus*.

Dans les racines, on observe seulement chez *Lolium multiflorum* une diminution significative de la teneur du Cd due à l'apport du P. La plus grande partie du Cd absorbé par la plante se retrouve dans les racines : 97 % chez *L. albus*, 91 à 92 % chez *L. angustifolius* et 63 % chez *Lolium multiflorum* (Tab. IV).

En ce qui concerne, la longueur des racines, *Lolium multiflorum* dispose d'environ 2 fois plus de racines par unité de poids de matière sèche aérienne que les deux espèces de lupins (Tab. V). Les longueurs totales de racines des espèces *Lupinus albus* et *Lolium multiflorum* et le rapport de ces longueurs sur la matière sèche aérienne

**Tableau IV.** Matière sèche aérienne (MSA), concentration de Cd dans les parties aériennes (Cd MSA) et dans les racines (Cd MSR), quantité totale de Cd dans la biomasse aérienne (Cd-tot. MSA) et dans les racines (Cd-tot. R) et proportion relative de Cd dans les parties aériennes en fonction du niveau de phosphore (expérience 3).

		MSA (g par pot)	Cd MSA (mg·kg <sup>-1</sup> )	Cd-tot. MSA (µg)	Cd MSR (mg·kg <sup>-1</sup> )	Cd-tot. R (µg)	% Cd MSA
Première récolte (13 jours après semis)							
<i>L. albus</i>	-P	2,9	0,11	0,32	12,0	8,6	4
	+P	2,9	0,09	0,26	9,0	8,8	3
<i>L. angustifolius</i>	-P	1,4	0,71	0,96	11,6	7,8	11
	+P	1,4	0,66	0,95	9,5	6,8	12
<i>Lolium multiflorum</i>	-P	0,8	6,86	5,28	21,4	5,1	51
	+P	0,7	4,23	3,00	12,7	4,3	41
Deuxième récolte (25 jours après semis)							
<i>L. albus</i>	-P	6,7 a	0,17 a	1,14 a	14,0 a	36 a	3
	+P	7,0 a	0,14 a	0,98 a	13,6 a	36 a	3
<i>L. angustifolius</i>	-P	2,6 a	1,04 a	2,67 a	11,6 a	27 a	9
	+P	2,8 a	0,91 b	2,51 a	11,1 a	27 a	8
<i>Lolium multiflorum</i>	-P	4,2 a	5,19 a	21,6 a	21,1 a	38 a	36
	+P	5,6 b	3,56 b	19,8 a	14,5 b	34 a	37

Dans chaque colonne et pour chaque espèce, les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes pour  $P = 0,05$ .

**Tableau V.** Longueur racinaire et rapport de la longueur des racines sur la matière sèche aérienne à la deuxième récolte en fonction de la fertilisation phosphatée sur sol calcaire (expérience 3).

		Longueur de racines		Rapport longueur de racines
		(cm par pot)	valeurs relatives	sur matière sèche aérienne
				(cm·mg <sup>-1</sup> )
<i>L. albus</i>	-P	23720	100 a	3,6 a
	+P	33108	140 b	4,8 b
<i>L. angustifolius</i>	-P	14468	100 a	5,6 a
	+P	16025	110 a	5,8 a
<i>Lolium multiflorum</i>	-P	42897	100 a	10,3 a
	+P	80048	187 b	14,4 b

a et b sont relatifs à la comparaison des traitements +P et -P de la même espèce. Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes pour  $P = 0,05$ .

**Tableau VI.** Absorption de Cd par les racines entre le 13<sup>e</sup> et le 25<sup>e</sup> jour après semis sur la base de la quantité totale de Cd dans la plante totale<sup>(1)</sup> d'une part et de la quantité de Cd mobilisé dans la biomasse aérienne<sup>(2)</sup> d'autre part en fonction de l'apport phosphaté (expérience 3).

		Abs. P.T. <sup>(1)</sup>	Abs. B.A. <sup>(2)</sup>	Abs B.A.
		(10 <sup>-18</sup> mol·cm <sup>-1</sup> ·s <sup>-1</sup> )		%
<i>L. albus</i>	-P	18,8 b	0,55 d	3
	+P	13,6 c	0,35 e	3
<i>L. angustifolius</i>	-P	20,8 b	1,68 c	8
	+P	19,3 b	1,38 c	7
<i>Lolium multiflorum</i>	-P	24,1 a	7,97 a	33
	+P	14,3 c	5,12 b	36

Abs. P.T. : absorption par la plante totale.

Abs. B.A. : absorption dans la biomasse aérienne.

% Abs. B.A. : proportion relative dans la biomasse aérienne.

Dans chaque colonne et pour chacune des espèces, les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes pour  $P = 0,05$ .

produite sont significativement supérieures lorsqu'on applique le phosphore en comparaison avec les traitements sans apport phosphaté. Le tableau VI montre l'absorption du Cd par unité de longueur de racine et unité de temps (flux d'absorption). Sur la base de la quantité totale de Cd dans la plante (biomasse aérienne et souterraine), les résultats montrent une ressemblance relative entre les espèces. Les valeurs se situent entre 14 et  $24 \times 10^{-18}$  mol·cm<sup>-1</sup>·s<sup>-1</sup>. L'apport phosphaté s'accompagne d'une réduction significative de l'absorption du Cd chez *Lupinus albus* et *Lolium multiflorum*. Contrairement aux valeurs relatives à la plante en général, des

différences remarquables s'observent lorsqu'on tient compte uniquement de la quantité de Cd transportée dans la biomasse aérienne de la plante. Pour *Lolium multiflorum*, ce flux est en moyenne 10 et 5 fois respectivement supérieur à celui de *Lupinus albus* et de *Lupinus angustifolius*. En définitive, l'application du P s'accompagne d'une diminution significative du prélèvement du Cd par les racines aussi bien chez *Lupinus albus* que chez *Lolium multiflorum*.

### 3.2. pH et concentration du Cd de la solution du sol

– **Sur sol acide (expérience 2).** Le tableau VII montre que le pH augmente sous l'effet de la culture des espèces étudiées : il est en moyenne de 5,3 chez *L. albus*, 5,9 chez *L. angustifolius* et 5,6 chez *Lolium multiflorum* contre 4,8 dans les pots de référence sans plante. Parallèlement à cette augmentation de pH, la concentration de Cd dans la solution du sol diminue sous l'effet de la culture de *Lupinus* (les valeurs n'ont pas été mesurées pour *Lolium multiflorum*). La figure 1 illustre la relation exponentielle entre la solubilité du Cd et le pH du sol avec un coefficient de corrélation significatif  $r = 0,789$ .

– **Sur sol calcaire (expérience 3).** Contrairement au sol acide, l'augmentation du pH sous l'effet de la culture des espèces étudiées reste très faible (0,3 unité en moyenne). Entre les espèces, il n'existe aucune différence significative de pH. Toutefois, la teneur en Cd de la solution du sol sous l'effet de la culture de *Lupinus* est le double de celle des pots sans plante (Tab. VIII). Aucune modification statistiquement significative n'est observée sous l'effet de la culture de *Lolium multiflorum* par rapport aux pots de référence sans plante.

**Tableau VII.** pH et concentration du Cd de la solution du sol acide sableux 44 jours après semis (expérience 2).

	Numéro	pH	$\mu\text{g Cd}\cdot\text{L}^{-1}$
pot de référence (sans plante)		4,75 f	34 b
<i>L. albus</i>	1	5,15 e	20 d
	2	5,18 e	43 a
	3	5,41 cd	27 c
	4	5,14 e	26 c
	5	5,30 de	21 d
	6	5,23e	16 d
	7	5,71 b	5 e
	8	5,18 e	15 d
	9	5,49 c	10 e
	10	5,43 cd	17 d
Moyenne		5,32	19
<i>L. angustifolius</i>	11	5,86 a	3,4 f
	12	5,90 a	2,0 f
Moyenne		5,88	2,7
<i>Lolium multiflorum</i>	13	5,64	n.d.

n.d. : non déterminé.

Dans chaque colonne, les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes pour  $P = 0,05$ .

### 3.3. Exsudation d'acides organiques chez les espèces étudiées (expérience 4)

Les 2 espèces de lupin présentent une exsudation 10 à 100 fois supérieure à celle du ray-grass (Tab. IX). Dans cette expérience, une attention particulière est portée sur l'exsudation de citrate compte tenu de sa constante de stabilité de complexation des métaux plus élevée que celle des autres acides organiques. L'apport phosphaté a une influence inhibitrice sur l'excrétion de citrate chez les génotypes Minori, Nelly et Bordako. Outre le citrate, d'autres anions organiques tels que le malate, le succinate, le formiate, l'acétate et le lactate sont excrétés par les racines.

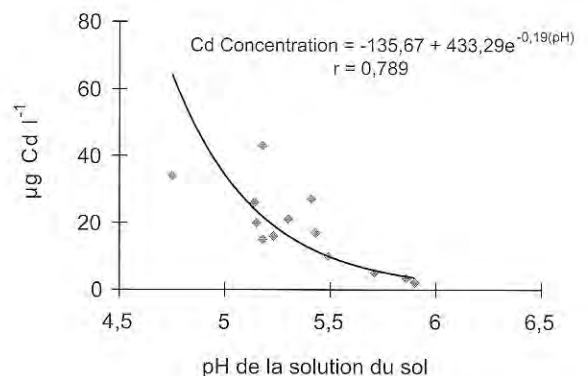
## 4. DISCUSSION

Les résultats montrent que la concentration de Cd dans la biomasse aérienne est plus élevée chez le ray-grass que chez les lupins indépendamment du type de sol

**Tableau VIII.** pH et concentration du Cd de la solution du sol basique 25 jours après semis (expérience 3).

		pH	$\mu\text{g Cd}\cdot\text{L}^{-1}$
pot de référence (sans plant)	- P	7,8 b	1,68 b
	+ P	7,8 b	1,18 b
<i>L. albus</i>	- P	8,1 a	3,4 a
	+ P	8,1 a	3,5 a
<i>L. angustifolius</i>	- P	8,1 a	3,1 a
	+ P	8,1 a	3,2 a
<i>Lolium multiflorum</i>	- P	8,1 a	1,3 b
	+ P	8,2 a	1,3 b

Dans chaque colonne et pour chacune des espèces, les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes pour  $P = 0,05$ .

**Figure 1.** Corrélation entre la concentration en Cd et le pH de la solution du sol 44 jours après semis (expérience 2).

(Tabs. III et IV). Parmi les espèces de lupin, *L. angustifolius* présente de fortes teneurs en Cd. Chez *L. albus*, il existe des différences significatives entre les génotypes. Dès lors, se pose la question de savoir pourquoi les variétés de lupin ont une teneur plus faible en Cd que le ray-grass ? La quantité de Cd dans la biomasse aérienne est le résultat de l'absorption du Cd de la solution du sol par les racines suivie de sa translocation vers la biomasse aérienne. Nous remarquons que :

- sur sol acide, les différences de teneurs en Cd des racines entre *L. albus* et *Lolium multiflorum* sont faibles. Ces deux espèces montrent pourtant des teneurs en Cd supérieures à celles observées chez *L. angustifolius* (Tab. III),
- sur sol calcaire sans apport phosphaté (Tab. IV), les racines de *Lolium* ont une teneur plus élevée en Cd.



**Tableau IX.** Exsudation racinaire d'acides organiques chez *L. albus*, *L. angustifolius* et *Lolium multiflorum* en fonction de la nutrition phosphatée (expérience 4).

	<i>L. albus</i>				<i>L. angustifolius</i>				<i>Lolium multiflorum</i>	
	cv. Minori		cv. Nelly		cv. Borweta <sup>1</sup>		cv. Bordako		cv. Lisarand	
	-P	+P	-P	+P	-P	+P	-P	+P	-P	+P
	nmol·cm <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>									
Citrate	0,32 a	0,15 b	0,45 a	0,26 b	4,27 a	5,23 a	6,80 a	3,64 b	0,024 a	0,037 a
Malate	0,43	0,87	1,18	1,65	1,75	7,02	7,19	5,23	0,009	0,043
Succinate	0,27	0,23	0,26	0,28	0,71	0,57	0,73	0,40	0,008	0,013
Formiate	0,67	0,59	0,67	0,63	1,66	1,70	2,31	1,11	n.b.	n.b.
Acetate	0,61	0,68	0,64	0,97	1,08	1,53	1,83	1,14	0,060	0,059
Lactate	-	-	-	-	-	-	-	-	0,041	0,097

<sup>1</sup> Les plants étaient attaqués en partie par l'antracnose.

Pour chaque variété, les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes pour  $P = 0,05$ .

Par conséquent, le Cd est manifestement retenu dans les racines si bien que la quantité transférée vers la biomasse aérienne ne représente que 3 à 8 % chez *L. albus* contre 24 à 37 % chez *Lolium*. Ces valeurs doivent toutefois être considérées avec précaution car les racines sont lavées et toutes les particules de sol n'ont peut-être pas été éliminées. Il est à souligner que cette variabilité de la répartition du Cd entre la biomasse aérienne et les racines confirme les résultats des travaux de Florijn [6] qui ont montré même des différences entre plusieurs variétés du maïs. D'après les travaux de Bienfait et al. [2] le Fe peut être adsorbé par les cellules racinaires sans être absorbé par ces dernières. Strasser et Römheld [30] ont montré que le Fe adsorbé (Fe-extracellulaire) peut représenter 25 % chez l'orge. Il est probable donc qu'une partie du Cd serait retenue (par adsorption ou complexation ou chélation) par des anions solubles ou insolubles des membranes cellulaires (mucilage, acides uroniques et protéines extracellulaires). C'est ainsi que Morel et al. [22], Mench et al. [20] ont démontré la fixation de Pb, Cu, Cd et du Zn sur les mucilages et les exsudats solubles racinaires. Cependant la quantité de Cd adsorbée est plus faible que celle du Pb et du Cu. Dans le cadre de ce travail, la quantité de Cd intracellulaire et extracellulaire n'a pas été déterminée si bien que l'analyse explicative du flux total d'absorption effective du Cd reste impossible. Calculé sur la base de la biomasse aérienne, le flux d'absorption racinaire du Cd varie en fonction des espèces. Chez *Lolium multiflorum*, il est de 4 et 14 fois supérieur respectivement à ceux de *L. angustifolius* et *L. albus*.

La plus forte concentration de Cd dans la biomasse aérienne de *Lolium multiflorum* résulte donc d'une part de l'importance de sa capacité de prélèvement du Cd de la solution du sol suivie du transfert du Cd prélevé vers la biomasse aérienne et d'autre part du rapport de la longueur des racines sur la quantité de matière sèche aérienne produite. Ce dernier paramètre illustre la longueur en mètre ou en centimètre de racines dont dispose la plante pour alimenter en éléments nutritifs 1 gramme de matière sèche formée. De ce qui précède, se posent deux questions suivantes :

- quel mécanisme conduit à une plus forte absorption du Cd par le ray-grass comparée aux lupins ?
- pourquoi les lupins transfèrent-ils moins de Cd vers les parties aériennes que le ray-grass ?

Il est connu depuis 1976 qu'en milieu carencé en Fe, les graminées excrètent de phytosidérophores. Ces derniers chélatent le Fe et le complexe chelat-Fe peut être directement absorbé par les racines [31]. Treeby et al. [32] expliquent la solubilisation du Cu et du Zn par le même mécanisme. Ce phénomène pourrait donc être discuté pour le Cd du moins en sol basique à faible solubilité en Fe et dont le pH se situe entre 7,8 et 8,2 (Tab. VIII). Dans ce cas précis, l'exsudation de phytosidérophores est probable ; ce qui peut provoquer une solubilisation du Cd et donc son absorption élevée par les racines du ray-grass. Aucune diminution significative de la concentration de Cd de la solution du sol n'a été remarquée au niveau du ray-grass bien que ce dernier prélevait du Cd au cours de sa croissance. Il résulte donc de ce phénomène qu'à

pH 7,8, la faible sécrétion des exsudats racinaires du ray-grass favorise ainsi l'absorption du Cd. En outre, d'après les travaux de Cielinsky et al. [3] sur le blé (*durum*), la mobilisation du Cd du sol peut avoir lieu à travers la sécrétion d'acides organiques en sol à pH neutre ou légèrement basique et qui probablement peut conduire à une absorption accrue en cet élément. Cependant, dans le cadre de ce travail, aucune analyse explicative n'est possible car la concentration de Cd dans la solution sur sol basique n'a pas été déterminée.

En ce qui concerne la forte concentration du Cd dans la biomasse aérienne du ray-grass, il résulte ce qui suit. En sol acide, la concentration de Cd de la solution du sol (Tab. VII) est significativement plus faible sous la culture de lupins que dans les pots témoins sans plante. Particulièrement sous la culture de *L. angustifolius*, la diminution de la concentration devient plus marquée. En revanche, le pH de la solution du sol augmente sous l'effet de la culture. La relation entre les deux paramètres (le pH et la concentration de Cd de la solution du sol) est relativement étroite (Fig. 1). Pour Naidu et Harter [23], l'augmentation de l'adsorption de Cd en sol acide et en présence de ligands organiques comme les ions oxalate et citrate peut être attribuée à la formation de particules chargées de sol-ligands. Selon ces auteurs, à un pH donné, le potentiel négatif des particules du sol est significativement plus élevé en présence de citrate qu'en présence d'acétate et de nitrate. Outre l'augmentation des charges négatives, les ions hydroxydes de la phase solide peuvent être libérés par les acides organiques à travers des échanges de ligands. Ce qui conduit donc à une augmentation de pH ; c'est le cas de luvisol [8]. Cependant, il est à noter que la solubilité du Cd du sol diminue avec l'augmentation du pH [11]. Contrairement au ray-grass, la culture des deux espèces de lupin entraînerait ainsi une diminution de la concentration de Cd suite aux quantités élevées d'anions d'acides organiques qu'elles excrètent dans la solution du sol. Ceci peut être une raison de la faible absorption du cadmium par les racines de *L. angustifolius*.

Sur sol calcaire, la concentration de Cd de la solution du sol a été le double de celle du sol sous l'effet de la culture des lupins. Ce résultat confirme celui de Naidu et Harter [23]. Malgré les concentrations élevées de Cd dans la solution du sol, les lupins montrent en sol calcaire une plus faible concentration de Cd dans la biomasse aérienne que le ray-grass. Ici se pose la question de savoir si l'absorption du Cd sous la forme de complexes organométalliques dissous est réalisable avec la même intensité que celle des ions libres  $Cd^{2+}$ .

Au cours d'une étude faite par Keller [16] sur 2 variétés d'épinard, l'addition de citrate (0,1 mM) à la solution

de nitrate de Cd n'entraîne aucune inhibition significative de l'absorption du Cd par les racines en comparaison avec une solution de  $Cd(NO_3)_2$  sans application de citrate. En revanche, dans le cas du Cu, l'application de la même concentration (0,1 mM) de citrate à une solution de  $Cu(NO_3)_2$  dans les mêmes conditions de culture s'accompagne d'une réduction significative de l'absorption du Cu. Une forte concentration de citrate dans la rhizosphère serait donc indispensable pour induire une complexation du Cd dans la solution du sol, car d'après Martell and Smith [18] la constante de stabilité du citrate de Cd est nettement plus faible que celle du citrate de Cu. D'après les travaux de Gerke et al. [10], les concentrations de citrate et d'acide malique dans la solution du sol de la rhizosphère des racines protéoïdes de *L. albus* sont respectivement de l'ordre de 1 mM et 12 M. Par la théorie de la spéciation des différentes formes de l'élément chimique dans la solution [18] il est à prévoir 82 % de Cd sous forme de complexe avec le citrate dans la solution du sol. Mais jusqu'à quel degré, cette complexation influence l'absorption de Cd par les racines reste à étudier. Il est à souligner aussi que seul le Cd prélevé par les racines peut être transporté vers les parties aériennes. Les résultats de ce travail montrent une forte concentration de Cd dans les racines particulièrement chez *L. albus*. Dans ce cas, on peut supposer que le Cd est complexé dans les vacuoles des cellules de racines et ne peut être facilement transféré vers la biomasse aérienne. Neumann et al. [24] ont trouvé une concentration de citrate de 17 à 22  $\mu M \cdot g^{-1}$  poids frais aussi bien dans les racines protéoïdes jeunes, matures que sénescents. Mais l'exsudation du citrate a été remarquée seulement chez les racines matures. *L. albus* a par conséquent un potentiel élevé de complexation et donc de rétention des métaux absorbés dans ses racines protéoïdes. En revanche, *L. angustifolius* se caractérise par une forte exsudation d'acides organiques en comparaison avec *L. albus*. La plus faible concentration de Cd dans les racines de *L. angustifolius* comparée à celle des racines de *L. albus* peut être une indication d'une faible concentration d'acides organiques dans les racines de *L. angustifolius* entraînant une faible complexation dans les vacuoles des cellules racinaires. Par conséquent, le Cd est facilement transféré vers la biomasse aérienne.

## 5. CONCLUSION

Indépendamment des conditions de cultures, de la nutrition phosphatée et du type de sol, les résultats ont

montré que *Lolium multiflorum* accumule plus de Cd dans sa biomasse aérienne (BA) que *Lupinus albus* et *Lupinus angustifolius*. L'ordre de classement est le suivant : *Lolium multiflorum* (5,0) > *Lupinus angustifolius* (3,03) > *Lupinus albus* (0,5 mg.Cd.kg<sup>-1</sup> BA). Les racines de *L. albus* et surtout de *L. angustifolius* excrètent différents acides organiques tels que citrate, acide malique, succinate... Les plantes montrent une augmentation significative d'excrétion racinaire de citrate lorsqu'elles sont cultivées en conditions moins pourvues en phosphore. Sur sol acide, on observe une diminution de la teneur en Cd de la solution du sol. Par contre sur sol calcaire, la teneur en Cd de la solution du sol augmente sous l'effet de la culture de *Lupinus* suite probablement à la formation de complexe de citrate de Cd. Une étude sur la spéciation des formes probables du Cd dans la solution du sol s'avère par la suite indispensable en vue de mieux appréhender l'effet des excréments d'acides organiques sur la mobilisation du Cd dans le sol et par conséquent son prélèvement par les racines.

**Remerciements :** Ce travail a été financé par DFG « Deutsche Forschungsgemeinschaft (Graduiertenkolleg « Landwirtschaft und Umwelt ») ». Nous remercions Dr. Hinsinger P. (Montpellier) pour ses analyses et critiques en vue de la finition de cet article.

## RÉFÉRENCES

- [1] Adams F., Soil solution, in : Carson E.W. (Ed.), The plant root and its environment, University Press of Virginia, USA, 1974.
- [2] Bienfait H.F., v. d. Briel W., Mesland-Mul N.T., Free Space Iron Pools in Roots: generation and mobilization, *Plant Physiol.* 78 (1985) 596–600.
- [3] Cieslinski G., Van Rees K.C.J., Szmigielska A.M., Krishnamurti G.S.R., Huang P.M., Low-molecular-weight organic acids in rhizosphere soils of durum wheat and their effect on cadmium bioaccumulation, *Plant and Soil* 203 (1998) 109–117.
- [4] Dinkelaker B., Römheld V., Marschner H., Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin, *Plant Cell Environ.* 12 (1989) 285–292.
- [5] Egle K., Römer W., Gerke J., Keller H., Influence of phosphorus nutrition on the organic acids exudation of the roots of three lupin species, *Proceeding of the 9th International Lupin Conference*, 20 to 24 June 1999, Klink/Müritz, Germany, 1999, pp. 249–251.
- [6] Florijn P.J., Van Beusichem M.L., Uptake and distribution of cadmium in maize inbred lines, *Plant and Soil* 150 (1993) 25–32.
- [7] Gardner W.K., Barber D.A., Parberry D.G., The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. III. The probable mechanism by which phosphorus movement in the soil/root interface is enhanced, *Plant and Soil* 70 (1983) 107–124.
- [8] Gerke J., Römer W., Jungk A., The excretion of citric and malic acid by proteoid roots of *Lupinus albus* L.: effects on soil solution concentration of phosphate, iron and aluminium in the proteoid rhizosphere in samples of an oxisol and a luvisol, *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 157 (1994) 289–294.
- [9] Gerke J., *Chemische Prozesse der Nährstoffmobilisierung in der Rhizosphäre und ihre Bedeutung für den Übergang vom Boden in die Pflanze*, Habilitationsschrift, Cuvillier Verlag Göttingen, 1995.
- [10] Gerke J., Wessel E., Egle K., Römer W., Heavy metal acquisition by white lupin and yellow lupin, *Proceeding of the 9th International Lupin Conference*, 20 to 24 June 1999, Klink/Müritz, Germany, 1999, pp. 254–257.
- [11] Herms U., Brümmer G., Einflussgrößen der Schwermetalllöslichkeit und -bindung in Böden, *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 147 (1984) 400–424.
- [12] Hinsinger P., How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere, *Adv. Agron.* 64 (1998) 225–265.
- [13] Jones D.L., Organic acids in the rhizosphere – a critical review, *Plant and Soil* 205 (1998) 25–44.
- [14] Keerthisinghe G., Hocking J.P., Ryan P.R., Delhaize E., Effect of phosphorus supply on the formation and function of proteoid roots of white lupin (*Lupinus albus* L.), *Plant Cell Environ.* 21 (1998) 467–478.
- [15] Keller H., Römer W., Ausscheidung organischer Säuren bei Spinat in Abhängigkeit von der P-Ernährung und deren Einfluß auf die Löslichkeit von Cu, Zn und Cd im Boden, in: Merbach W. (Ed.), 8. Borkheider Seminar zur Ökophysiologie des Wurzelraumes, B. G. Teubner Verlagsgesellschaft Stuttgart, Leipzig, 1998, pp. 187–195.
- [16] Keller H., Einfluss wurzelbürtiger organischer Säuren auf das Cu-, Zn- und Cd-Aneignungsvermögen von Spinatgenotypen, Ph.D.-Thesis Universität Kaiserslautern, 2000. <http://kluedo.ub.uni-kl.de/Chemie/Quellen/dissertation-33.pdf>.
- [17] Li M., Shinano T., Tadano T., Distribution of exudates of lupin roots in the rhizosphere under phosphorus deficient conditions, *Soil Sci. Plant Nutr.* 43 (1997) 237–245.
- [18] Martell A.E., Smith R.M., *Critical stability constants*, Plenum Press, New York, 1989.
- [19] Mench M., Morel J.L., Guckert A., Metal binding properties of high molecular weight soluble exudates from maize (*Zea mays* L.) roots, *Biol. Fertil. Soil* 3 (1987) 165–169.
- [20] Mench M., Martin E., Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L., *Nicotiana tabacum* L. and *Nicotiana rustica* L., *Plant and Soil* 132 (1991) 187–196.
- [21] Miyasaka S.C., Buta J.C., Howell R.K., Foy C.D., Mechanisms of Al tolerance in snapbeans. Root exudation of citric acid, *Plant Physiol.* 96 (1991) 737–743.
- [22] Morel J.L., Mench M., Guckert A., Measurement of Pb<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> binding with mucilage exudates from maize (*Zea mays* L.) roots, *Biol. Fertil. Soil* 2 (1986) 29–34.

- [23] Naidu R., Harter R., Effect of different organic ligands on cadmium sorption by and extractability from soil, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62 (1998) 644–650.
- [24] Neumann G., Massonneau A., Martinoi E., Römheld V., Physiological adaptations to phosphorus deficiency during proteoid root development in white lupin, *Planta* 208 (1999) 273–382.
- [25] Newman E.J., A method of estimating the total length of root in a sample, *J. Appl. Ecol.* 3 (1966) 139–145.
- [26] Pellet D.M., Grunes D.L., Kochian L.V., Organic acid exudation as a aluminium-tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.), *Planta* 196 (1995) 788–795.
- [27] Römer W., Gerke J., Phosphat- und Eisenmobilisierung durch Wurzelexsudate bei *Lupinus albus* L., in: Wink M. (Ed.), *Lupinen in Forschung und Praxis*, 1998, pp. 15–25.
- [28] Römer W., Embaye T., Keller H., Abhängigkeit der Cu-, Zn- und Cd-Konzentration in 10 Spinatgenotypen von der Wurzelmorphologie und der Aufnahme. *Landw. Forsch., Sonderheft* 49, Kongreßband Gießen, 1998, pp. 159–162.
- [29] Schilling G., *Pflanzenernährung und Düngung. Teil 1: Pflanzenernährung*, Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin, 1990.
- [30] Strasser O., Römheld V., Bedeutung des Apoplastischen Eisens in den Wurzeln von Tomate und Gerste in Bodenkulturen für die Ernährung der Pflanze, in: Merbach W. (Ed.), *8. Borkheider Seminar zur Ökophysiologie des Wurzelraumes*, B. G. Teubner Verlagsgesellschaft Stuttgart, Leipzig, 1998, pp. 80–86.
- [31] Tagaki S., Nomoto K., Takemoto T., Physiological aspects of micineic acid, a possible phytosiderophore of gramineous plants, *J. Plant Nutr.* 7 (1984) 469–477.
- [32] Treeby M., Marschner H., Römheld V., Mobilization of iron and other micronutrients from a calcareous soil plant-borne, microbial and synthetic metal chelators, *Plant and Soil* 114 (1989) 217–226.
- [33] Williams R.F., The effects of phosphorus supply on the rates of intake of phosphorus and nitrogen and upon certain aspects of phosphorus metabolism in gramineous plants, *Aust. J. Sci. Res. B* 1 (1948) 333–361.