

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Ziane Hanane

Bekhatou Fatiha

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité: Biodiversité et Environnement

THÈME

**Effet Combiné du Cuivre et du Plomb sur la
Germination et la Croissance du Pois chiche
« *Cicer arietinum* L »**

Soutenue publiquement le / /2022

DEVANT LE JURY

Président	TAHRI. M	MCA	U. Mostaganem
Rapporteur	KRIBI. S	MCB	U. Mostaganem
Examineur	MEDJAHED. M	MCB	U. Mostaganem

*Thème réalisé au laboratoire de biologie végétale
Année Universitaire 2021-2022*

REMERCIEMENTS

Avant tout nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce mémoire.

Nous remercions notre encadreur Mme Belabed-Kribi. Soraya de son grand aide durant la réalisation de ce travail, elle nous a orientés vers le succès avec ses connaissances et son encouragement

Nous tenons à remercier les membres de jury d'avoir accepté d'examiner et de juger notre travail, Mr Tahri Miloud président et Mr Medjahed. Mustapha Examineur

Nous remercions tous nos enseignants pour l'enseignement qu'ils nous ont accordé durant notre cycle universitaire. Ainsi nous présentons nos remerciements à l'ensemble des responsables de laboratoires et les étudiants du département des Sciences de la nature et la vie

Dédicaces

*Avant tout je remercie mon DIEU le tout puissant
qui m'a donné la ténacité pour achever ce travail.*

*C'est très agréable de sentir que j'ai bien et pu faire
ce modeste travail, mais le plus agréable c'est de le
dédier :*

A mes très chers parents que Dieu les protège.

A mes grands-parents.

A toute la famille Ziane & Mammeri sans exception

Tous mes ami(e) s les plus chers.



Hanane

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de tant d'années d'étude : à toutes les personnes proches de mon cœur.

Mon très cher père que je remercie pour toutes ses sacrifices, de m'avoir permis de donner le meilleur de moi-même et me surpasser et de me donner toute sa confiance.

A ma Très chère mère, pour son soutien moral permanent, sa compréhension et son dévouement, et sa tendresse.

A mon mari pour ses intenses encouragements, sa présence et son soutien le long de mes études.

A mes enfants : Chams al DIN et Younes.

Mes chers frères : Mohamed, Amine.

Mes chères sœurs : Marwa, Houwaria, Nacira, Hamida, khayrur, fouzia.



Fatíha

Résumé

Dans le but de tester la sensibilité du pois chiche (*Cicer arietinum* L) contre la toxicité au cuivre et au cuivre combiné au plomb, l'évaluation du pouvoir germinatif et la croissance en pot sur sol agronomique a été réalisées par des tests appropriés. Le test de germination des graines dans des boites de pétri sur papier filtre ainsi que l'évaluation des paramètres de croissance à savoir, la biométrie des tiges et racines, nombre des feuilles ont été évalués. Les résultats révèlent que le cuivre à différentes concentrations (100, 300 et 500ppm) n'affecte pas la germination des graines de *cicer arietinum*. (un taux maximal de germination de 92%). Par contre l'effet du cuivre combiné au plomb, a réduit le pouvoir germinatif avec un taux maximal de 85% contre 88% chez le témoin. Les résultats de la moyenne biométrique des tiges montrent que la plante est sensible au stress du Cu et le cuivre combiné au plomb a diminué la sensibilité causé par le Cu mais la croissance des tiges reste toujours affectée, Le stress du cuivre n'a pas affecté la croissance foliaire. Cette résistance est atténuée vis-à-vis du test combiné par rapport au test de Cu

L'évaluation de la biométrie des racines indique une croissance positivement importante contre le stress de Cu pour les concentrations de 100 ppm (13,5) suivie de 300 ppm (15cm) contre 8 cm chez le témoin. Cependant la croissance des racines est sensible aux concentrations élevées du Cu (500ppm). La combinaison du cuivre et du plomb a diminué la croissance du système racinaire de *Cicer arietinum* L dont la biométrie moyenne est de 6,5 cm contre 8 cm chez le témoin

Mots clés : Métaux lourds ; *Cicer arietinum* L ; Germination ; Croissance ; Impact

Abstract

In order to test the sensitivity of chickpea (*Cicer arietinum* L) against toxicity to copper and copper combined with lead, the evaluation of germination power and pot growth on agronomic soil was carried out by appropriate tests. The seed germination test in Petri dishes on filter paper as well as the evaluation of the growth parameters namely, the biometrics of the stems and roots, number of leaves were evaluated. The results reveal that copper at different concentrations (100, 300 and 500ppm) does not affect the germination of *Cicer arietinum* seeds. (a maximum germination rate of 92%). On the other hand, the effect of copper combined with lead, reduced the germination power with a maximum rate of 85% against 88% in the control. The results of the biometric average of the stems show that the plant is sensitive to stress of Cu and copper combined with lead decreased the sensitivity caused by Cu but the growth of the stems remains always affected,

Copper stress did not affect leaf growth. This resistance is attenuated with respect to the combined test compared to the Cu test

Evaluation of root biometrics indicates positively significant growth against Cu stress for concentrations of 100 ppm (13.5) followed by 300 ppm (15cm) versus 8 cm in the control. However, root growth is sensitive to high Cu concentrations (500ppm). The combination of copper and lead reduced the growth of the root system of *Cicer arietinum* L whose average biometry is 6.5 cm against 8 cm in the control

Keywords: Heavy metals; *Cicer arietinum* L; sprouting; Growth ; Impact

الملخص

من أجل اختبار حساسية الحمص (*Cicer arietinum* L) ضد السمية للنحاس والنحاس المختلط مع الرصاص ، تم تقييم شدة الإنبات ونمو على التربة الزراعية عن طريق الاختبارات المناسبة. تم تقييم اختبار إنبات البذور في أطباق بتري على ورق الترشيح وكذلك تقييم معاملات النمو وهي القياسات الحيوية للسيقان والجذور وعدد الأوراق. كشفت النتائج أن النحاس بتركيزات مختلفة (100 و 300 و 500 جزء في المليون) لا يؤثر على إنبات بذور الحمص. (الطول الأقصى 92% إنبات). من ناحية أخرى ، أدى تأثير النحاس مع الرصاص إلى تقليل قوة الإنبات بمعدل أقصى يبلغ 85% مقابل 88% في الاختبار الشاهد. أظهرت نتائج المتوسط الحيوي للساق أن النبات حساس لتركيز النحاس وأن النحاس مقترنًا بالرصاص قلل من الحساسية الناتجة عن النحاس ولكن لا يزال نمو الساق متأثرًا، لم يؤثر النحاسي على نمو الأوراق. تم تخفيف هذه المقاومة فيما يتعلق بالاختبار المشترك مقارنة باختبار النحاس.

يشير تقييم القياسات الحيوية للجذر إلى نمو جد إيجابي ضد النحاس للتركيزات 100 جزء في المليون (13.5) تليها 300 جزء في المليون (15 سم) مقابل 8 سم في المجموعة الشاهد. ومع ذلك ، فإن نمو الجذر حساس لتركيزات النحاس العالية (500 جزء في المليون). أدى الجمع بين النحاس والرصاص إلى تقليل نمو الجذر لنبات *Cicer arietinum* L اذ بلغ متوسط قياسه الحيوي 6.5 سم مقابل 8 سم في مجموعة الشاهد.

الكلمات الرئيسية: المعادن الثقيلة؛ *Cicer arietinum* L ؛انتاش؛ نمو ؛ تأثير

Liste des abréviations

μ : Micro.

Mm : millimètre.

μm : Micromètre.

O₂ : oxygène.

t.ha-1 : tonne par hectare.

Mg : milligramme.

G : gramme.

Kg : kilogramme.

Cu : Cuivre.

Pb : Plomb

Cm : Centimètre

Pb so₄ : sulfate de Plomb.

Pb co₃: carbonate de plomb.

ETM : élément trace métallique

ERO :espèces réactifs de l'oxygène

ATP : adénosine-triphosphate.

Ros: réactive oxygène species.

PPM : parties par million .

DPPH : 2,2 _ diphenyl 1 _ picrylhrazyle.

T : Température

Liste des Tableaux

Tableau 1. Caractères d'essentialité et de toxicité de quelques éléments traces (Garnaud et <i>al.</i> 2001).....	11
Tableau 2. Contribution de différentes sources à l'enrichissement moyen annuel des terres émergées en métaux lourds (Miquel, 2001).....	12
Tableau 3. Flux des éléments trace dans l'environnement (tonne/an). (Bich, 2005).....	12
Tableau 4 : Composition chimique et minérale du pois chiche (Icrisat, 2008).....	27
Tableau 5 : Production du pois chiche en tonnes (T) dans le monde (FAOSTAT, 2015).....	28
Tableau 6 : Production du pois chiche en Algérie (MADR, 2015).....	29
Tableau 7 : les concentrations des solutions préparées pour l'irrigation à partir d'un poids initial de sel de métal.....	35

Liste des figures

Figure 1 : Source des métaux lourds dans le sol (Klute, 1986)	12
Figure 2 : Pois chiche (<i>Cicer arietinum</i> L.).....	25
Figure 3 : La fleur de pois chiche.....	25
Figure 4 : présentation de la Faculté des sciences de la nature et de la vie (Université de Mostaganem).....	32
Figure 5 : La plante de pois chiche (<i>cicer arietinum</i> L).....	33
Figure 6 : Les graines de <i>Cicer arietinum</i> L.....	33
Figure 7 : Rinçage et trempage des graines dans l'eau distillée après traitement.....	34
Figure 8 : Dispositif expérimental de germination.....	36
Figure 9 : Condition de germination de <i>Cicerarietinum</i> L. (Etuve 25C°).....	36
Figure 10 : Traitement de Sol de culture par le métal.....	38
Figure 11 : Préparation des semences de <i>Cicer arietinum</i> L.....	38
Figure 12 : Effets du Cu sur la germination globale des graines de pois chiche.....	41
Figure 13 : L'effet du Cu sur le pouvoir cinétique de germination des graines de pois chiche...42	
Figure 14 : L'effet du Cu sur le pouvoir de germination relatif des graines de pois chiche...43	
Figure 15 : L'effet combiné du cuivre et du plomb sur le pouvoir germinatif global.....44	
Figure 16 : L'effet combiné du cuivre et du plomb sur le pouvoir cinétique de germination.44	
Figure 17 : L'effet Cu du cuivre et de Pb sur le pouvoir relatif de germination.....45	
Figure 18 : (1) Germination des graines de stress métallique(Cu) (2) stress combiné (Cu/Pb)45	
Figure 19 : L'effet du Cuivre sur la biométrie des tiges de <i>Cicer arietinum</i>46	
Figure 20 ; L'effet combiné du Cu et Pb sur la biométrie des tiges de <i>Cicer arietinum</i>47	
Figure 21 : <i>Cicer arietinum</i> après 30 jours de croissance sous stress combiné (Cu +Pb).....47	
Figure 22 : L'effet du cuivre sur le nombre des feuilles en relation avec la croissance de <i>Cicer arietinum</i> L.....48	
Figure 23 : L'effet combiné du (Cu +Pb) sur le nombre des feuilles en relation avec la croissance de <i>Cicer arietinum</i>48	
Figure 24 : Croissance foliaire de <i>Cicer arietinum</i> L (Stress Cu, croissance de 30jours)....49	

Figure 25 : L'effet du cuivre sur la biométrie des racines de <i>cicer arietinum</i> L (30 jours de croissance).....	50
Figure 26 : L'effet combiné Cuivre+Plomb) sur la biométrie des racines de <i>cicer arietinum</i> L (30jours de croissance).....	50
Figure 27 : La biométrie des racines de <i>Cicer arietinum</i> L (Stress Cu, 30 jours de croissance).....	51

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	1

TABLE DES MATIERES

Partie I. Synthèse bibliographique

Chapitre I. Relation sol et Végétation

I.1.1. Connaissance sur le sol.....	4
I.1.1.1. Introduction.....	4
I.1.1.2. Définition.....	4
A. Selon les agronomes.....	4
B. Selon les pédologues.....	4
I.1.1.3. Description du sol.....	5
A. composition.....	5
B. Les propriétés physiques du sol.....	5
C. Les propriétés chimiques.....	5
D. les propriétés biologiques.....	6
I.1.2. Relation Sol-végétal.....	6
I.1.2.1. Aspect pédogénèse.....	6
I.1.2.2. Aspect physiologique.....	6
I.1.2.3. Aspect biogéographique et écologique.....	6
I.1.2.4. Notions sur la germination des semences.....	6
I.1.2.5. Conditions requises pour la germination des semences.....	7

I.1.2.6. Phases de la germination.....	7
I.1.3. Définition de la croissance.....	8
I.1.3.1. Facteurs de croissance.....	8
I.1.3.2. Conditions de croissance.....	9

Chapitre 2. Métaux Lourds

I.2.1. Généralités.....	10
I.2.2. Définition.....	10
I.2.3. Origine des métaux lourds dans le sol.....	11
I.2.4. Spéciation, mobilité et biodisponibilité des métaux lourds.....	13
I.2.4.1. Spéciation.....	13
I.2.4.2. Mobilité.....	13
I.2.4.3. Biodisponibilité.....	13
I.2.5. Facteurs modifiant la mobilité des métaux lourds.....	13
I.2.5.1. Potentiel hydrogène (pH).....	13
I.2.5.2. Potentiel redox (Eh.).....	13
I.2.5.3. Activité biologique.....	14
I.2.5.4. Température.....	15
I.2.5.5. Matière organique.....	15
I.2.5.6. Texture et la structure du sol.....	15
I.2.5.7. Capacité d'échange cationique (CEC).....	16
I.2.6. le Plomb.....	16
I.2.6.1. Propriétés physico-chimiques du plomb.....	16
I.2.6.2. Plomb dans le sol.....	17
I.2.6.3. Biodisponibilité du plomb.....	17
I.2.6.4. Effets du plomb sur les végétaux.....	18
I.2.7. Le cuivre.....	20
I.2.8. Réponse et stratégie d'adaptation des végétaux au stress métallique.....	21

Chapitre 3.

Présentation de la plante : Pois chiche « *Cicer arietinum* L »

I.3.1. Origine et historique.....	23
I.3.2. Taxonomie et caractéristique botaniques.....	23
I.3.2.1. Classification.....	23
I.3.2.2. Description botanique.....	23
I.3.3. Caractéristiques agronomiques.....	25
I.3.3.1. Les exigences climatiques.....	25
I.3.4. Importance du pois chiche.....	26
I.3.4.1. Importance alimentaire.....	26
I.3.4.2. Importance agronomique.....	27
I.3.5. La production du pois chiche.....	27

Partie II. Expérimentale

Chapitre 1. Matériel et Méthodes

II.I. Matériel et Méthodes.....	32
II.1.1. Objectif du travail.....	32
II.1.2. Site d'étude (Site expérimental.....	32
II.1.3. Matériel végétal.....	32
II.1.4. Protocole expérimental.....	34
A. Germination.....	34
❖ Traitement des graines.....	34
❖ Préparation des solutions métalliques.....	34
❖ Mise en germination.....	35
❖ Paramètres analysés.....	36
B. La croissance.....	37
❖ Préparation du milieu de transplantation.....	37
❖ Préparation des pots de culture.....	37
❖ Préparation de Sol de culture traité par le métal.....	37
❖ Etape de préparation des semences.....	38

Chapitre II. Résultats et Interprétations

II.2. Résultats et interprétations.....	41
II.2.1. Effet sur la germination.....	41
II.2.1.1. Effets du cuivre sur la germination des graines <i>Cicer arietinum</i> L.....	41
A. L'effet sur le taux de germination.....	41
B. L'effet du cuivre sur la cinétique de germination.....	42
C. L'effet du cuivre sur le taux de germination relatif (TGR).....	43
II.2.1.2. Effet combiné de stress métallique du Cuivre et de Plomb sur la germination <i>des graines de cicer arietinum</i>	43
A. L'effet combiné sur le taux de germination.....	43
B. L'effet combiné du Cu et de Pb sur la cinétique de germination.....	44
C. L'effet combiné du cuivre et de plomb sur le pouvoir relatif de germination.....	44
II.2.2. Effets du cuivre sur la croissance de <i>Cicer arietinum</i>	45
A. Effets du Cuivre sur la biométrie des tiges.....	46
B. L'effet combiné (Cu+Pb) sur la biométrie des tiges.....	46
C. L'effet du cuivre et effet combiné du (cuivre + plomb) sur le nombre des feuilles de <i>Cicer arietinum</i> L (durée de quatre semaines de croissance).....	47
II.2.3. Effet du cuivre et effet combiné du (cuivre + plomb) sur la biométrie des racines de <i>cicer arietinum</i> L.....	49
Discussion générale.....	53
Conclusion générale.....	56
Références bibliographiques.....	59

INTRODUCTION

Introduction

La pollution de l'environnement est devenue de nos jours une préoccupation mondiale majeure vue ses effets directs sur les ressources naturelles en général et la santé de l'homme en particulier.

De nombreux éléments de métaux lourds tels que Le plomb (Pb), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le chrome (Cr) et d'autres ne peuvent pas être biodégradables et donc persistent dans l'environnement pendant de longues périodes. Ces éléments existent naturellement dans les sols, mais les activités anthropiques, telles que la production agricole, le transport et l'activité industrielle, peuvent favoriser potentiellement la pollution par les métaux lourds (**Facchinelli et al, 2001**). Ces activités rejettent des éléments de métaux lourds dans l'environnement par le biais des eaux usées, des gaz résiduels et des déchets solides, et la plupart des éléments de métaux lourds s'accumulent dans le sol (**Chaffai et al, 2011**) en induisant des modifications et dans certains cas une production de sols fortement anthropisés (**Barles et al, 1999 ; Wong et al , 2006**). Les plantes sont directement exposées à ces éléments dont le potentiel toxique est indéniable et passe à l'homme à travers la chaîne alimentaire (**Jaishankar et al, 2014**)

Parmi l'ensemble des métaux lourds, une vingtaine d'entre eux sont indispensables aux processus physiologiques majeurs en particulier la respiration, la photosynthèse ou l'assimilation des macronutriments (e.g azote, soufre) (**kabata-Pendias and Pendias, 2001**).

Le premier effet des métaux lourds indésirables observable chez les végétaux est une inhibition de la croissance. Celle-ci s'accompagne très souvent de nombreux autres indices de dysfonctionnement : chlorose foliaire, importantes lésions nécrotiques, jaunissement progressif, repliement ou dessèchement du feuillage... A l'heure actuelle, les bases moléculaires de ces perturbations sont encore mal connues, mais on admet généralement qu'elles résultent d'un stress oxydatif, dû à la production d'espèces réactives de l'oxygène ou « Réactive Oxygen Species » (ROS). Cette dernière altèrent toute une série de substrats biologiques importants, avec comme conséquence la modification des domaines fonctionnels des biomolécules : inhibition de l'activité enzymatique, perturbation du métabolisme végétal (notamment la photosynthèse et la respiration), oxydation des protéines, altération des membranes cellulaires via l'induction de phénomènes de peroxydation lipidique, apparition de cassures au sein de l'ADN, pouvant conduire à la mort cellulaire (**Dietz et al, 1999 ; Cheng, 2003**). Pour éviter ces inconvénients, des systèmes de stockage ou de détoxification des métaux

accumulés ont été sélectionnés chez certains végétaux. D'efficacité variée selon les espèces, il semble à l'heure actuelle que trois mécanismes, encore mal compris, soient largement prépondérants : la modification de la perméabilité membranaire, qui permet de réduire l'entrée des métaux dans la cellule, le système antioxydant, qui limite les dégâts des espèces réactives de l'oxygène et la chélation intracellulaire, qui empêche l'activité de l'ion métallique. L'accumulation des éléments métalliques dans les sols cultivés provoque des effets nuisibles sur la croissance des plantes ainsi que sur la qualité des produits agricoles. **(Sridhara et al., 2008)** . La capacité d'une plante à résister ou à tolérer la toxicité aux métaux lourds dépend de son aptitude à maintenir la germination et la croissance dans un environnement pollué. Compte tenu de l'importance de la phase germinative dans le déroulement des stades ultérieurs du développement de toute espèce végétale, il s'avère indispensable d'étudier le comportement germinatif et le développement végétatif et d'évaluer la tolérance vis à vis d'un stress métallique **(Peralta et al, 2001)**.

C'est dans ce contexte que notre étude est réalisée, dont l'objectif est de tester la sensibilité ou la résistance d'une plante culinaire (*Cicer arietinum* L) au stress métallique combiné de cuivre et de plomb ,sachant que à travers le monde, le pois chiche est considéré comme un aliment de base **(Berger et al, 2003)** et sa culture maintient pour une longue durée la fertilité du sol et se place comme un atout majeur dans toutes les stratégies de gestion durable en agriculture **(Icrisat, 2008)**.

Ce mémoire est rédigé de la façon suivante :

✓ Une partie bibliographique, regroupe trois chapitres : les généralités sur le sol et relation sol/végétal ; les caractéristiques des métaux lourds notamment le cuivre et le plomb et l'impact sur la végétation et sur la présentation de l'espèce végétale « *Cicer arietinum* L » dans le troisième chapitre

✓ La partie expérimentale renferme deux chapitres : chapitre I présente matériel et méthodes où sont décrits le matériel végétal utilisé, le protocole expérimental et les différents paramètres analysés et le chapitre II consiste à la présentation de l'ensemble des résultats. Les résultats obtenus sont interprétés et discutés.

Ce mémoire est achevé par une conclusion générale.

Partie I.
Synthèse bibliographique

Chapitre 1. Relation sol et Végétation

I.1.1 Connaissance sur le sol

I.1.1.1. Introduction

Le sol est une entité continue couvrant la surface des continents et à l'interface entre lithosphère, atmosphère, hydrosphère et biosphère. Il est le résultat de la conjugaison de 5 facteurs de pédogenèse : la roche, le climat, les agents biologiques (végétation, hommes, animaux), la topographie et le temps (**Dokoutchaev, 1903**). Cette définition du sol établit des relations d'interdépendance entre le règne minéral (le sol, la roche) et la nature vivante (agents biologiques). (**Legros, 2007**)

C'est un réservoir pour les substances nutritives des plantes et pour l'eau des précipitations, il agit aussi comme un filtre pour l'eau. Les substances introduites dans le sol peuvent y être décomposées par les microorganismes qui y résident, être liées aux particules du sol ou encore y passer sans transformation. (**Camuzard, 2001**)

I.1.1.2. Définition

En réalité, il existe plusieurs définitions du sol :

A. Selon les agronomes

Le sol est la partie arable homogénéisée par les labours et explorée par les racines des plantes. On considère qu'un bon sol agricole est constitué de 25% d'eau, 25% d'air, 45% de matière minérale et de 5% de matière organique. Le tassement et la semelle de labour peuvent induire une perte de 10 à 30%. (**Herve, 2006**)

B. Selon les pédologues

Les pédologues estiment que la partie arable ne constitue que la partie superficielle du sol. Le pédologue **Demolon (1952)** a défini le sol comme étant « la formation naturelle de surface, à structure meuble et d'épaisseur variable, résultant, de la transformation de la roche mère et sous-jacente sous l'influence de divers processus, physique, chimiques et biologiques au contact de l'atmosphère et des êtres vivants ». (**Herve, 2006**) . La formation du sol est due à l'action combinée sur la roche mère, des agents atmosphériques et de la couverture végétale (**Calvet, 2003**)

I.1.1.3. Description du sol

A. composition

Les sols se composent de débris minéraux insolubles produits par la fragmentation et l'altération des roches mères, de sel minéraux solubles, de matière organique vivante et morte, de gaz et d'eaux. (Herve, 2006)

Le sol est déterminé par le calibre des particules qui le composent. Les particules minérales vont de la catégorie des cailloux et des graviers à celle des particules inférieures à 2μ . Les débris grossiers, tels que les sables et les graviers, sont chimiquement inactifs, mais les particules minérales plus petites, les colloïdes, principalement les argiles, servent de réserve de nutriments qui sont absorbés par les racines des plantes. Le calibre et la nature de ces minuscules particules minérales déterminent en grande partie la capacité d'un sol à stocker l'eau, élément vital pour toute les plantes. . (Herve, 2006)

La partie organique du sol comprend des débris végétaux qui ne sont pas décomposées, des restes d'animaux (matière organique fraîche) et des quantités variables de matière organique amorphe (en cours décomposition), appelées humus, elle constitue de 2 à 5p. 100 de la masse du sol dans la région humides, mais en représente moins de 0.5p. 100 dans les sols ou plus de 95p. 100 dans les sols tourbeux. (Herve, 2006)

B. Les propriétés physiques du sol

Elles se définissent par la texture et la structure du sol.

La texture d'un sol dépend du calibre des particules qui le composent la fraction grossière comprend les cailloux et les graviers d'un diamètre supérieur à 2mm. La fraction fine est répartie en sable, limon et argiles. Appartiennent à la catégorie des sables dont le diamètre des particules est compris entre 2 mm et 50μ ; la catégorie des limons va de 50 à 2μ , les argiles sont inférieures à 2μ . (Calvet, 2003)

C. Les propriétés chimiques

En général, les sols composés des silicates, dont la complexité varie de simple oxyde de silicium, le quartz, au très complexe silicate d'aluminium hydraté, présent dans les sols argileux. Un sol est caractérisé en chimie par sa capacité d'absorption, c'est-à-dire par le pouvoir de fixation des ions minéraux sur les colloïdes, due à des phénomènes électriques. Les colloïdes électronégatifs constituent le complexe absorbant qui attire les cations, en particulier les cations métalliques (Na, K, Ca, Mg) appelés base échangeable. Cette capacité et cette possibilité d'échange dépendent de la teneur du sol en colloïdes et de la quantité de cations

disponibles. Elle détermine la fertilité naturelle et grâce à ces propriétés que l'on peut améliorer le sol en utilisant des fertilisants qui enrichissent la quantité de bases échangeable. **(Calvet, 2003)**

D. les propriétés biologiques

Les caractères biologiques des sols dépendent de la matière organique. Le terme général qui désigne le mélange complexe de matière organique dans le sol est l'humus. L'humus n'est pas un mélange stable de produits chimiques, mais plutôt un mélange variable dynamique représentant toutes les étapes de la décomposition d'une matière organique morte, de la plus simple à la plus complexe. Le processus de décomposition est causé par l'action d'un grand nombre de bactéries microscopiques et de champignons. Ces micro-organismes, dans le cycle de la nutrition, attaquent et digèrent les composants organiques complexes qui constituent la matière vivante et les réduisent en composants simples pour que les plantes puissent s'en nourrir.

La nature de l'humus dépend de l'intensité de la minéralisation et de l'humification, elle-même influencée par l'activité biologique. **(Chaussod, 2001)**

I.1.2. Relation Sol-végétal

I.1.2.1. Aspect pédogénèse

Elle est représentée par la contribution de la végétation à la formation du sol par une action physique (dissociation par poussée de racine), chimique (corrosion de la roche par les racines, et surtout apports organiques à la surface du sol) et microbiologique. **(Ozenda, 1982)**

I.1.2.2. Aspect physiologique

Equilibre entre le sol, la solution du sol et les racines des plantes ; compétition entre la plante et le sol pour certains éléments, (l'eau...etc.)

I.1.2.3. Aspect biogéographique et écologique

Le sol influence la répartition des végétaux. en effet, l'influence des fonctions physique se traduit par la liaison entre certaines plantes et un type donné de texture ou de structure : espèce de roche (lithophytes), espèces spasmophiles liées au sable.**(Ozenda, 1982)**

I.1.2.4. Notions sur la germination des semences

La germination est le passage d'une semence de sa vie latente à une vie active sous l'effet de facteurs favorables. C'est un processus physiologique dont les limites sont le début de

l'hydratation de la semence et le tout début de la croissance de la radicule (**Mazliak , 1982**). Une semence a germé, lorsque la radicule a percé les enveloppes ou elle est visiblement allongée (**Bewley, 1997**).

I.1.2.5. Conditions requises pour la germination des semences

Pour germer une semence exige la réunion de conditions favorables :

A. L'eau : la germination exige obligatoirement de l'eau, celle-ci doit être apportée à l'état liquide. Elle pénètre par capillarité dans les enveloppes. Elle est remise en solution dans les réserves de la graine, pour être utilisée par l'embryon, et provoque le gonflement de leurs cellules, donc leur division (**Chaussat et Ledeuiff , 1975**).

B. L'oxygène : comme pour l'eau, la germination exige obligatoirement de l'O₂. Une faible quantité d'oxygène serait suffisante pour permettre la germination. Selon **Meyer et al, (2004)**, l'oxygène est contrôlé par les enveloppes qui constituent une barrière, mais en même temps une réserve.

C. La température : elle agit soit directement en augmentant la vitesse des réactions biochimiques, c'est la raison pour laquelle il suffit d'élever la température de quelques degrés pour stimuler la germination (**Mazliak , 1982**), soit indirectement par ses effets sur la solubilité de l'O₂ dans l'embryon (**Chaussat et al, 1975**)

D. La lumière : elle agit de manière différente sur les espèces. Elle inhibe la germination des semences à photosensibilité négative et stimule celles à photosensibilité positive (**Anzala, 2006**). Les espèces dont les graines sont indifférentes à la photosensibilité sont rares (**Heller et al, 1990**)

I.1.2.6. Phases de la germination

La germination des semences se déroule en 3 phases

A. Phase d'imbibition

La phase 1 correspond à une forte hydratation des tissus, accompagnée d'une élévation de l'intensité respiratoire (**Heller et al, 2004**). Elle implique un mouvement d'eau dans le sens de potentiel hydrique décroissant (**Hopkins, 2003**).

B. Phase de germination au sens strict

Est caractérisée par une diminution de l'entrée d'eau et une reprise de la respiration, des activités métaboliques et mitotiques. L'eau active les phytohormones hydrosolubles en stock

dans la graine. C'est le cas des gibbérellines qui vont activer la synthèse (α -amylases d'hydrolases nucléases et protéinases) nécessaires à la dégradation des réserves, à la division et l'élongation cellulaire. Les α -amylases hydrolysent l'amidon stocké dans l'albumen et libèrent des molécules de glucose, substrat du métabolisme respiratoire. La phase de germination au sens strict se termine avec la percée du tégument par la radicule, rendue possible grâce à l'allongement des cellules (**Heller et al, 2004**).

C. La phase de croissance post-germinative

Elle est caractérisée par une entrée de nouveau de l'eau et une augmentation importante de la respiration. La consommation de l'O₂ serait due aux enzymes néosynthétisées. L'ABA (acide abscissique) néosynthétisé serait un des facteurs les plus importants qui régule cette phase (**Grappin et al, 2000**)

I.1.3. Définition de la croissance végétale

La croissance est l'augmentation continue de toutes les dimensions de la plante : longueur, largeur, diamètre, surface, volume et masse. Cette augmentation est mesurable dans le temps. La croissance d'une plante entière (ou d'un couvert végétal) fait intervenir en fait deux phénomènes concomitants :

- la croissance en dimension de chacun des organes après leur initiation : c'est la croissance au sens strict ;
- la multiplication du nombre de ces organes : c'est la liaison avec le développement. (**Tayeb-Amezine, 1995**)

I.1.3.1. Facteurs de croissance.

Ils sont les éléments internes (liés à la plante) et externes (liés au milieu) qui interviennent dans la fabrication de la matière sèche ; ils ont une action quantitative donnant lieu à un bilan d'énergie et de matière : (**Tayeb-Amezine, 1995**)

- Energie solaire
- Eléments minéraux
- Eau
- Température.

I.1.3.2. Conditions de croissance

Les processus de fabrication de matière sèche, et donc l'utilisation des facteurs de croissance, peuvent se dérouler sous certaines conditions et être limités sous d'autres. Exemples :

- Température suffisante permettant de déclencher les processus comme la germination, le développement foliaire et l'extension racinaire
- Régulation thermique, conditions hydriques et ouverture stomatique
- Aération autour des racines pour la diffusion de l'oxygène
- Etat structural permettant la croissance des racines
- Forte concentration en sels entraînant la toxicité des plantes (**Tayeb-Amezine, 1995**)

Chapitre 2. Métaux Lourds

I.2.1. Généralités

La contamination des sols agricoles par les métaux lourds tels que le plomb (Pb), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu) et le zinc (Zn) est de nos jours une question de santé publique et de conservation de l'environnement. Ces métaux sont présents dans les sols à la suite des activités géo-génétiques (**Baize, 1997**) ou anthropiques telles que le raffinage, la combustion de combustibles fossiles, l'application d'engrais phosphatés, et des boues d'épuration aux sols (**Kabata-Pendias, 2001**). Les métaux ne sont pas biodégradables et donc peuvent persister dans le sol pendant de longues périodes. Le Zn, Cu et Pb sont toxiques pour les végétaux et les animaux y compris l'homme (**Kabata-Pendias, 2001**)

I.2.2. Définition

Le terme métaux lourds est arbitraire et imprécis. Il est utilisé pour des raisons de simplicité et il recouvre des éléments ayant des propriétés métalliques (ductilité, conductivité, densité, stabilité des cations, spécificité de ligand...) et un numéro atomique supérieur à 20 (**Raskin et al., 1994**). Les métaux lourds sont définis comme étant des éléments chimiques toxiques ayant une densité supérieure à 5 g/cm³ (**Elmsley, 2001**). On distingue deux types en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques : métaux essentiels et métaux toxiques.

➤ **Métaux essentiels** sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques (**Loué, 1993**). Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du fer (Fe) (**Kabata et Pendias, 2005**).

➤ **Métaux toxiques** ont un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg), du cadmium (Cd). (**Huynh, 2009**)

Tableau 1 : Caractères d'essentialité et de toxicité de quelques éléments traces.
(Garnaud *et al.*, 2001)

	Indispensables FC			Toxique FC			Commentaires
	Plantes	Animaux	Homme	Plantes	Animaux	Homme	
Cadmium	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Phytotoxique
Chrome	Non	Non	Non	Oui	Non	Oui	Toxiques
Cuivre	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Immobile dans le sol , peu toxique
Fer	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Phytotoxique à pH acide
Plomb	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Peu phytotoxique
Zinc	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Peu toxique

FC : faible concentration.

I.2.3. Origine des métaux lourds dans le sol

La présence des métaux lourds dans les sols peut être naturelle ou anthropogénique (Figure 1)

A. Origine naturelle

Les métaux lourds sont présents naturellement dans les roches, ils sont libérés lors de l'altération de celles-ci pour constituer le fond géochimique. La concentration naturelle de ces métaux lourds dans les sols varie selon la nature de la roche, sa localisation et son âge.

B. Origine anthropique

Cependant, la source majeure de contamination est d'origine anthropique (Klute , 1986). (Figure 1). Au cours des dernières décennies, l'apport de métaux lourds au sol dans le monde s'est étendu. On l'estime à 22000 tonnes de cadmium, 939000 t de cuivre, 783000 t de plomb, et 1350000 t de zinc. (Klute , 1986). Les principaux types de pollutions anthropiques responsables de l'augmentation des flux de métaux, sont la pollution atmosphérique (rejets urbains et industriels), la pollution liée aux activités agricoles, domestiques et la pollution industrielle (Tableaux 2 et 3).

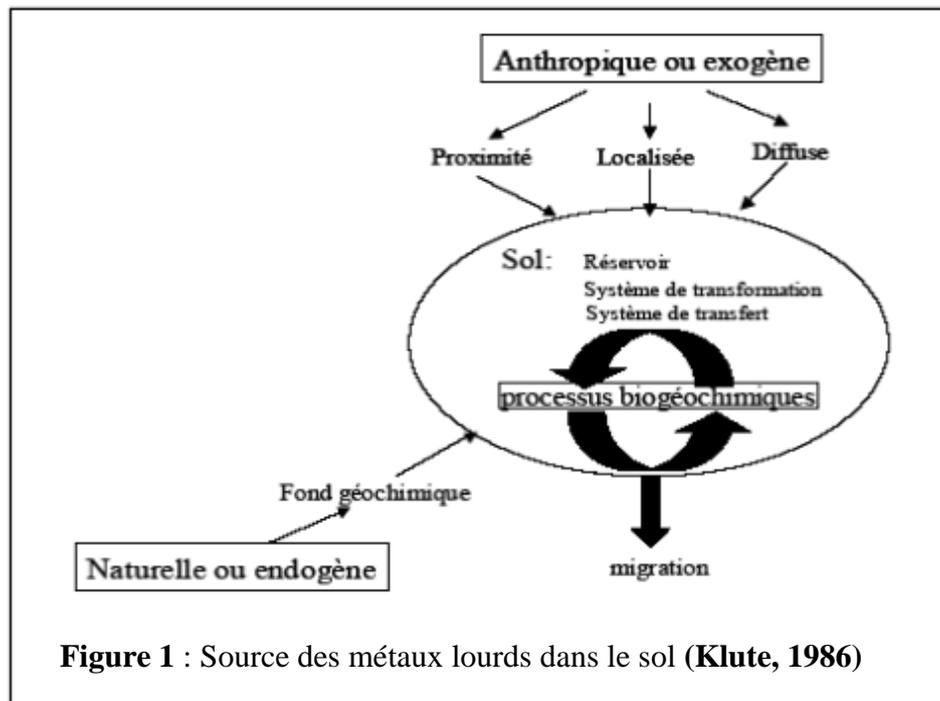


Tableau 2. Contribution de différentes sources à l'enrichissement moyen annuel des terres émergées en métaux lourds (Miquel, 2001).

	Cuivre	Zinc	Cadmium	Plomb
Total (milliers de tonnes)	126	760	20	382
Déchets agricoles	55%	61%	20%	12%
Déchets urbains	28%	20%	38%	19%
Engrais	1%	1%	2%	1%
Retombées atmosphériques	16%	18%	40%	68%

Tableau 3. Flux des éléments trace dans l'environnement (tonne/an). (Bich, 2005)

Elément	Flux anthropogénique	Flux naturel
As	150	80
Cd	43	4, 5
Cr	7810	810
Cu	9162	375
Pb	3665	180
Hg	17, 8	0, 9
Ni	1134	255
Zn	7467	540

I.2.4. Spéciation, mobilité et biodisponibilité des métaux lourds

I.2.4.1. Spéciation

La spéciation est définie comme la distribution des espèces chimiques d'un élément au sein d'un système, solide ou liquide (**Ponthieu et al., 2016**). Ces espèces sont différenciées selon leur composition isotopique, leur structure électronique, leur état d'oxydation, et/ou leur structure moléculaire. Cependant, le terme de spéciation d'un élément dans un sol est souvent utilisé dans un sens plus large englobant la distribution ou les processus d'identification des différentes phases d'un élément dans le milieu solide ou liquide (**Foreau, 2009**). Les ions métalliques libres et les espèces neutres, sont les formes les plus réactives, car plus facilement assimilables par les organismes vivants (**Baba Ahmed, 2012**)

I.2.4.2. Mobilité

La forme chimique des ETM affecte leur mobilité dans les sols et leur capacité de transfert dans les différents compartiments environnementaux. La mobilité correspond à l'aptitude d'un élément à passer d'un compartiment du sol où il est retenu avec une certaine énergie vers un autre compartiment où il est retenu avec une énergie moindre (**Anju et al, 2012**). Elle peut être étudiée au travers du changement de phase porteuse d'un élément, à l'échelle d'un sol, la mobilité d'un élément peut être évaluée en étudiant sa distribution verticale ou latérale (**Bisson et al, 2012**).

I.2.4.3. Biodisponibilité

La notion de biodisponibilité des ETM est définie par le passage d'un élément au travers d'une membrane biologique, végétale ou animale (**Dudal, 2004**). Elle dépend d'une part, de la fraction de l'élément qui peut être mobilisée physicochimiques dans le sol et d'autre part, de la capacité d'une espèce donnée à l'absorbe (**Girard et al, 2011**)

I.2.5. Facteurs modifiant la mobilité des métaux lourds

I.2.5.1. Potentiel hydrogène (pH)

A pH faible, la solubilité de la plupart des métaux est plus élevée (**Alloway, 1995**).

I.2.5.2. Potentiel redox (Eh)

En conditions réduites, la mobilité des métaux lourds est plus faible. Le potentiel redox est fortement lié au pH puisqu'il augmente quand celui-ci diminue (**Alloway, 1995**).

I.2.5.3. Activité biologique

La compréhension globale des phénomènes biologiques jouant sur la solubilité des métaux lourds dans les sols est rendue difficile par la multiplicité des actions et interactions à tous les niveaux. Les végétaux supérieurs étant au centre de notre étude, et les microorganismes ayant une influence sur l'ensemble du milieu aux échelles de temps et d'espace considérées, nous attacherons à développer principalement l'action des microorganismes et des plantes. Les principaux phénomènes d'action sur la mobilité des polluants métalliques sont la solubilisation, l'insolubilisation et la volatilisation (**Deneux-Mustin et al, 2003**).

A. Solubilisation

Provient de la production de composés acides tels que les acides carboxyliques, phénoliques, aliphatiques, nitrique et sulfurique. Certaines bactéries chimiolithotrophes (*Thiobacillus*, *Leptospirillum*, *Galionella*) oxydent les formes réduites du fer et du soufre contenues dans les sulfures et produisent de l'acide sulfurique, susceptible de dissoudre les silicates, les phosphates, les oxydes et les sulfures, libérant ainsi les métaux lourds contenus. Les champignons et les racines des plantes excrètent eux aussi des acides afin d'augmenter leur absorption de nutriments, ou tout simplement comme déchets métaboliques (**Foy et al., 1978 ; Deneux-Mustin et al, 2003**)

B. Insolubilisation

Constitue le phénomène opposé. Bien que le phénomène de détoxification externe des métaux lourds par des exsudats racinaires n'ait jamais été démontré (**Baker et Walker, 1990**), certains acides organiques de faible masse moléculaire, comme les acides oxalique, citrique ou fumarique qui interviennent dans la complexation intracellulaire d'éléments nutritifs, peuvent être sécrétés dans le milieu extérieur. Ils limiteraient ainsi les transferts par des processus de complexation (**Baker et Walker, 1990**).

C. Volatilisation

Repose sur l'action directe de certains microorganismes sur le degré d'oxydation de l'espèce métallique. C'est le cas du mercure, de l'arsenic et du sélénium (Se). La biométhylation permet le transfert de groupements méthyl directement aux atomes, Pb, Sn (étain), As, Sb (antimoine) et Se, permettant leur volatilisation dans l'atmosphère. (**Baker et Walker, 1990**)

I.2.5.4. Température

La température du sol dépend en premier lieu du climat, mais elle est également liée à l'activité biologique et influence rétroactivement la formation de complexes avec des ligands inorganiques, en modifiant l'activité de l'élément en solution. La température a un impact direct sur la mobilité des éléments métalliques en déplaçant les équilibres des réactions de dissolution-précipitation et Co-précipitation, et un impact indirect, en modifiant la teneur en eau du sol, le pH ou le potentiel redox (Eh). (**Deneux-Mustin, 2003**).

I.2.5.5. Matière organique

Elle se compose de deux fractions :

✓ La fraction vivante (micro-organisme, faune épilithique, rhizosphère des végétaux supérieurs, animaux fouisseurs). Son influence sur la fixation des éléments trace est importante, elle modifie le potentiel redox ou le pH. (**Kabata-Pendias, 2005**).

✓ La fraction morte (débris végétaux et animaux plus ou moins décomposés en humus, carbone rapporté). (**Kabata-Pendias, 2005**).

I.2.5.6. Texture et la structure du sol

La texture et la structure du sol sont des facteurs intervenant dans la mobilité des ETM. Dans un sol structuré, la vitesse de l'eau et des composés solubles est plus grande que dans une matrice constituée de micropores. Le transport par les colloïdes du sol (particules d'argile, matière organique soluble, biomasse) peut augmenter la mobilité des métaux associés à ces solides. Les pratiques culturales peuvent influencer la mobilité des métaux en modifiant les propriétés du sol et les conditions physico-chimiques, à la suite par exemple de l'apport de matière organique (boues chaulées ou non, composts, déjections animales, déchets divers) (**AFNOR, 2003**). La nature et le mode d'application des fertilisants, la rotation des cultures et le labour jouent aussi un rôle important. L'oxygène étant l'anion structural dominant, aussi bien dans l'eau que dans les constituants solides du sol, la spéciation des ETM est dominée par leur interaction avec l'oxygène des molécules d'eau, des anions hydroxyde OH⁻ ou oxyde O²⁻. Ainsi, plus un sol est aéré, moins le Cd est biodisponible. Or, le travail du sol entraîne alors une meilleure aération du sol ; inversement, le passage répété d'engins agricoles qui tassent le sol la réduit. Le degré d'aération du sol est aussi déterminé par les pratiques culturales (irrigation, apport de matière organique biodégradable donc consommatrice d'oxygène mais qui peut aussi améliorer l'aération du sol grâce à une meilleure structuration)

et par les évènements climatiques (précipitations massives entraînant une réduction de l'aération du sol) (Morel, 1997).

I.2.5.7. Capacité d'échange cationique (CEC)

Caractérise la capacité d'un sol à stocker et à restituer les éléments minéraux : les particules fines d'argile, à forte CEC, sont chargées négativement et adsorbent donc les particules de charges opposées. De ce fait, les cations métalliques peuvent se fixer à la surface des particules d'argile par échange de protons H^+ , entraînant une baisse de leur disponibilité (Alloway, 1995).

I.2.6. le Plomb

Le plomb est un métal gris-bleu grisant à l'air humide, facilement malléable et qui résiste à la corrosion. Sa présence dans la croûte terrestre est ubiquitaire (entre 15 mg/kg et 20 mg/kg). Il y est relativement accessible bien qu'il y soit peu présent sous sa forme métallique (Pb0). En effet, parmi ses trois états d'oxydation, le Pb(II) est le plus fréquent, le Pb (IV) étant presque inexistant sous des conditions normales. Le plomb métallique n'est pas soluble dans l'eau, mais plusieurs de ses composés le sont tels le bromure et le chlorure de plomb ainsi que le nitrate de plomb (ATSDR, 2007).

I.2.6.1. Propriétés physico-chimiques du plomb

Le plomb est un métal dense ($d=11,34$ à $20^{\circ}C$), de couleur bleu-gris argenté qui se trouve sur la croûte terrestre en petites quantités (0.002%). Il se trouve associé à plusieurs minerais (plus de 200 minerais de plomb) seulement les plus communes sont : la galène (PbS), la cérussite (PbCO₃) et l'anglésite (PbSO₄) (Adriano, 2001). Le plomb métallique est malléable, il forme divers alliages fusibles, il est peu soluble dans l'eau froide, l'eau chaude et les acides dilués, mais il se dissout facilement dans les acides forts. L'eau chargée d'oxygène dissous attaque par contre le plomb, et produit l'hydroxyde de plomb Pb(OH)₂ qui est très toxique (OMS, 1978). Le plomb est classé parmi les métaux lourds et se caractérise selon Cecchi, (2008) par :

- Une forte affinité au soufre.
- Il ne se détruit pas, il se transporte et change de forme en donnant des sels.
- Il a une conductivité élevée, ce qui explique son utilisation dans de nombreuses industries.
- Il présente une certaine toxicité entraînant des lésions plus ou moins graves.

I.2.6.2. Plomb dans le sol

Le comportement du plomb dans un sol dépend de différents facteurs comme sa dynamique propre mais également des caractéristiques pédologiques et physicochimiques du sol (**Baize, 1997**). Il peut être soit sous forme liée aux particules de terre soit dans la phase aqueuse. Dans les sols contaminés, la forme chimique initiale et la teneur en polluant apportée ont également une influence (**Dumat et al., 2001 ; Ferrand et al., 2006**). Le plomb va ainsi se retrouver :

- Inclus dans des minéraux primaires hérités de la roche-mère ou dans des minéraux secondaires suite à des précipitations ou co-précipitations notamment avec des oxydes (Fe, Al, Mn) (**BRGM, 2004**).
 - Adsorbé à la surface de la matière organique du sol (**BRGM, 2004**).
 - Adsorbé à la surface des méso et microorganismes du sol ou absorbé par eux (**BRGM, 2004**).
 - Dans la solution du sol, associé à des colloïdes (**BRGM, 2004**).
 - Dans la solution du sol, complexé par des molécules organiques ou sous forme libre.
- Les principales espèces du plomb présentes dans la solution du sol sont Pb^{2+} , et $PbCO_3$ (**BRGM, 2004**). Ces formes solubles, bien que très minoritaires, ont un rôle fondamental, puisque les racines prélèvent uniquement le plomb dans la solution du sol (**Bourellier and Berthelin, 1998**).

I.2.6.3. Biodisponibilité du plomb

L'absorption racinaire du Pb est actuellement considérée comme passive. Elle est réduite par le chaulage et les basses températures. Bien que le Pb soit dans le sol un élément très peu soluble, il peut s'accumuler dans les racines et particulièrement dans les membranes cellulaires. En règle générale, les concentrations en Pb d'une plante sont étroitement corrélées aux concentrations en Pb du sol, mais cette corrélation doit être nuancée et tenir compte en particulier de l'organe (racines, tiges, feuilles, etc.). La translocation de Pb vers les parties épigées d'une plante est un phénomène très limité. Ce qui fait que le Pb n'est pas un toxique systématique en ce sens qu'il ne diffuse pas dans le système vasculaire de la plante, son absorption racinaire n'est effective qu'au-delà de 1000ppm dans le sol, elle dépend entre autres facteurs de la concentration totale dans le sol, de la concentration dans la solution du sol et de la spéciation (**AFNOR, 1996**). La plante peut également absorber le Pb par les feuilles, Le maximum "normal" dans les plantes, selon **Mckenzie (1980)** est de 8 ppm.

I.2.6.4. Effets du plomb sur les végétaux

La toxicité du plomb dépend de sa concentration dans le milieu, de sa spéciation, des propriétés du sol, et enfin de l'espèce végétale concernée. Les plantes mettent en place diverses barrières physiques pour se protéger, quand le plomb a réussi à passer à travers ces barrières de protection, il peut affecter de nombreux processus physiologiques de la plante. Les premiers effets ne provoquent pas de symptômes visibles, ceux-ci ne se manifestant qu'en cas de toxicité avancée (Cecchi, 2008).

La croissance, Celle-ci s'accompagne très souvent de nombreux autres indices de dysfonctionnement : chlorose foliaire, importantes lésions nécrotiques, jaunissement progressif, repliement ou dessèchement du feuillage, les bases moléculaires de ces perturbations sont encore mal connues, mais on admet généralement qu'elles résultent d'un stress oxydatif, dû à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou « Réactive Oxygen Species » (ROS). Qui altèrent toute une série de substrats biologiques importants, et modifient les domaines fonctionnels des biomolécules pouvant conduire à la mort cellulaire (Cheng *et al.*, 2003).

* Effets sur la germination et la croissance

A l'échelle macroscopique, le plomb entraîne des effets néfastes sur les plantes. En premier lieu, la germination est fortement inhibée par les ions plomb (Pb^{2+}) à très faibles concentrations (Tomulescu *et al.*, 2004). De plus fortes doses conduisent à une inhibition totale de la germination chez les espèces végétales (Wierzbicka *et al.*, 1998). Le plomb réduit également fortement le développement de la plantule et des racinelles (Mishra et Choudhuri, 1998). Un traitement à de faibles concentrations en plomb inhibe la croissance des racines et des parties aériennes (Makowski *et al.*, 2002). Cette inhibition est plus importante pour la racine, ce qui peut être corrélé à plus forte teneur en plomb de cette dernière. L'accroissement de biomasse végétale est diminué par de fortes doses de plomb (Xiong *et al.*, 2006). Sur de longues durées, les traitements au plomb, même à des doses non-létales, peuvent conduire à l'apparition de nécroses au niveau des apex racinaires et des feuilles, ainsi que des chloroses foliaires (Liu *et al.*, 2000). L'ensemble des perturbations macroscopiques observées est la résultante :

- De l'interaction du plomb avec les différents composants cellulaires et les macromolécules (protéines, ADN...). (Liu *et al.*, 2000).
- De la perturbation de nombreux processus physiologiques comme la régulation du statu hydrique, la nutrition minérale, la respiration ou la photosynthèse. (Liu *et al.*, 2000).

*** Effet sur la Photosynthèse**

Chez les plantes, l'exposition au Pb conduit à une forte inhibition de la photosynthèse, du rendement photosynthétique, et à une limitation du taux d'assimilation de CO₂. Le rendement photosynthétique, très sensible, peut chuter de plus de 50% (**Bazzaz et al, 1975**). Cette inhibition s'explique par la diminution des teneurs en chlorophylle et en caroténoïdes généralement constatée (**Gopal et al, 2008**). La chlorophylle b semble plus sensible que la chlorophylle a (**Vodnik et al, 1999**). Toutefois, ces effets varient en fonction des espèces végétales. Les mécanismes de réduction de la teneur pigmentaire sont, en partie, élucidés. Le plomb induit l'activité chlorophyllase dans les feuilles (**Drazkiewicz, 1994**), mais le mécanisme principal semble être l'inactivation de la synthèse de ces pigments. Le plomb interagit à ce niveau de deux façons :

- D'une façon directe, en se substituant aux ions divalents liés aux métalloenzymes. C'est notamment le cas avec l'-aminolevulinate déshydratase ou ALAD qui est à la base de la synthèse des chlorophylles et dont l'ion zinc (Zn²⁺) est remplacé par plomb (Pb²⁺) (**Foy et al, 1978**).
- D'une façon indirecte, en induisant une carence en ces ions divalents (**Foy et al., 1978**).

*** Effets sur la nutrition minérale**

Le plomb affecte la nutrition minérale, en perturbant le prélèvement et le transport des nutriments par la plante, tels que Ca, Fe, Mg, Mn, P et Zn en bloquant leur entrée ou en se liant à eux, les rendant indisponibles pour les plantes (**Xiong, 1997**). Il a été montré, chez plusieurs plantes exposées au Pb, une diminution dans les feuilles de la concentration en cations divalents comme le Zn²⁺, le Mn²⁺, le Ca²⁺ et le Fe²⁺ (**Seregin et al, 2004; Kopyitke et al, 2007; Cecchi, 2008**). Cette diminution pourrait être due à une compétition entre le Pb et certains ions de taille équivalente au niveau des transporteurs membranaires. En effet, le Pb, qui a quasiment le même rayon que le K⁺, pourrait emprunter les canaux potassiques pour entrer dans la cellule (**Sharma et Dubey, 2005**). Le plomb affecte aussi le métabolisme azoté en diminuant le prélèvement de nitrate et en perturbant le fonctionnement de la nitrate réductase (**Seregin et Ivanov 2001 ; Cecchi, 2008**).

I.2.7. Le cuivre

Le Cu est un des éléments les plus essentiels pour les plantes et les animaux. En effet l'organisme ne peut croître complètement en son absence. Il ne peut être remplacé par un autre élément, il a une influence directe sur l'organisme et le bon fonctionnement de son métabolisme. Le cuivre est considéré comme l'élément le plus mobile des métaux lourds, par référence aux processus supergènes. Les formes chimiques du Cu présentes dans le sol sont : Cu^{2+} ; CuOH^+ ; $\text{Cu}(\text{OH})_2$; CuO ; CuCO_3 ; CuO_2^- ; Cu-O-Fe ; Cu-O-Al ; Cu-O-Mn . Dans le sol, le cuivre est bien réparti le long du profil et se fixe préférentiellement sur la matière organique (25 à 50 %), 98% du Cu soluble dans le sol se trouvent complexés à la matière organique, les oxydes de fer, de manganèse et les argiles. La répartition cuivre entre ces différentes fractions est fonction du pH, de la quantité et de la composition de la matière organique d'une part, et des colloïdes minéraux d'autre part. En métallurgie, il entre dans de nombreux alliages. Les sels de cuivre (sulfate, acétate, dérivés organiques) sont utilisés comme fongicides ou algicides en agriculture, pour les traitements chimiques de surfaces, la fabrication de peintures et de céramiques. En dehors des pollutions industrielles ou de traitements agricoles, ce métal provient habituellement de la corrosion des tuyauteries de distribution (**Pugh et al, 2002**). Le cuivre présent dans les racines est entièrement sous forme complexée, mais la pénétration racinaire doit quand même se réaliser à l'état de formes dissociées.

Le cuivre agit comme activateur de plusieurs enzymes aux proximités et fonctions diverses, dont les enzymes qui interviennent dans la photosynthèse et la respiration. Bien qu'il soit mobile dans les plantes où il est abondant, cet oligo-élément l'est bien moins dans les plantes où il est présent en quantité insuffisante. Il est donc probable qu'il existe un lien entre la concentration de cuivre dans les nouveaux tissus et l'état de la plante. Toutefois, l'analyse du milieu est plus utile que l'analyse des tissus pour repérer la carence en cuivre

* Carence

La carence en cuivre ralentit la croissance et entraîne la formation d'entre-nœuds courts et de petites feuilles. Au début, des chloroses intervalles apparaissent sur les feuilles adultes, mais par la suite, les symptômes progressent vers le haut de la plante. Les feuilles finissent par prendre une couleur vert terne ou bronze, leurs bords se recroquevillent vers le bas et la plante reste rabougrie. La carence en cuivre est rare, en partie parce que les approvisionnements en cuivre sont suffisants dans la plupart des cas, vu l'emploi fréquent du cuivre dans les canalisations. Elle survient parfois quand les plantes sont cultivées dans de la tourbe et où la

solution nutritive ne contient pas de cuivre. Un pH élevé du milieu réduit »assimilabilité du cuivre, mais effet est bien moins important que dans le cas du manganèse, du fer et du bore

***Toxicité**

Bien que rare, la toxicité du cuivre peut entraîner des chloroses causées par une carence en fer quand le milieu est contaminé par le cuivre provenant de sources industrielles. L'emploi généralisé de canalisations en cuivre peut causer une contamination par le cuivre.

***Concentration**

La concentration normale de cuivre varie entre 8 et 20 ppm dans le poids sec de la première feuille complètement développée (cinquième feuille). Les symptômes de la carence commencent à se manifester quand la concentration de cuivre passe au-dessous de 7 ppm et deviennent graves quand elle se situe entre 0.8 et 2.0 ppm. La carence en cuivre peut provoquer une forte baisse du rendement (de 20 à 90%)

I.2.8. Réponse et stratégie d'adaptation des végétaux au stress métallique

La tolérance aux métaux lourds est un phénomène dans lequel la plante interagit avec la concentration externe en métaux tout en régulant la concentration interne (**Macnair , 2007**). Selon (**McGrath et Zhao, 2003 ; Benavides et al, 2005**). Les divers mécanismes de contrôle sont :

- L'exsudation d'agents complexant dans le sol,
- La liaison des métaux avec les parois cellulaires,
- L'efflux actif des métaux depuis le symplasme,
- La limitation du transport des métaux dans les parties aériennes (translocation),
- La complication à divers ligands dans le symplasme (phytochélatines, acides organiques, acides aminés), puis le transport de ces complexes dans la vacuole,
- L'induction d'antioxydants enzymatiques ou non enzymatiques.
- La formation d'enzymes résistantes aux métaux qui limitent les dommages.

Les métaux lourds provoquent deux types de processus défavorables dans les systèmes biologiques. Premièrement, ils inhibent plusieurs enzymes en se liant à leurs groupes SH (**Rausser, 1995**). Deuxièmement, les ions des métaux lourds, peuvent intensifier les processus de production d'ERO conduisant au stress oxydatif (**Prasad et al, 1999 ; Cuypers et al, 1999**). Devant cette perturbation les plantes développent deux mécanismes de défense contre le stress oxydatif. Un mécanisme enzymatique consiste à activer les enzymes antioxydants tels que la

superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase, pour ajuster le contenu en ERO des cellules en fonction des besoins métaboliques de la plante (**Malekia et al, 2017**). Et un mécanisme non enzymatique peut être responsable de l'extinction excessive des ERO, tels que la proline, les polyphénols, les flavonoïdes, les caroténoïdes, l'ascorbate et le glutathion (**Wu et al, 2007 ; Zouari et al, 2016 a, b**). L'acide aminé proline est communément connu sous le nom d'osmolyte, mais récemment, ses propriétés antiradicalaires et antioxydantes ont été présentées dans plusieurs rapports (**Ashraf et Foolad, 2007**). Les polyphénols sont parmi les métabolites qui possèdent des capacités antioxydantes importantes (**Gomez-Caravaca et al, 2006**), En plus de ces activités, les polyphénols ont un grand pouvoir chélateur des métaux ce qui représente un intérêt biologique important (**Ravichandran et al, 2014 ; Selvaraj et al, 2014 ; Kasprzak et al, 2015**). La capacité des flavonoïdes à détoxifier les radicaux libres et les chélates a été démontré par (**Symonowicz et Kolanek, 2012**), et leur pouvoir de chélateur les métaux lourds a été décrit par (**Brown et al, 1998**). Le DPPH a été largement utilisé pour la détermination de l'activité antioxydante de composés simples ainsi que de différents extraits de plantes (**Jung et al, 2008**). Ces mécanismes antioxydants ont été décrits de façon exhaustive (**Gill et Tuteja, 2010 ; Dat et al, 2000 ; Apel et Hirt, 2004**).

Chapitre 3.

Présentation de la plante : Pois chiche « *Cicer arietinum* L »

I.3.1. Origine et historique

Le pois-chiche (*Cicer arietinum* L.) est connu depuis la haute antiquité dans le bassin méditerranéen, dans le Sud – Est de l'Asie et en Inde (**Erroux, 1975**). Il est classé parmi les premières légumineuses à graines domestiquées par l'homme (**Van der maesen, 1987**). En effet les premières traces d'utilisation du pois chiche comme aliment remontent à environ 7000 ans. Il aurait été cultivé pour la première fois dans la région méditerranéenne il y a 5000 ans. Le pois chiche est probablement originaire du Moyen-Orient, plus précisément du Sud-Est de la Turquie et de la Syrie (**Saxena, 1984 ; Singh, 1997**). Des restes carbonisés découverts au Proche-Orient indiquent que cette espèce était cultivée au VII^{ème} millénaire avant notre ère avec les céréales, le petit pois et la lentille (**Vanier, 2005 ; Redden et Berger, 2007**). L'expansion de cette culture a été rapide dans les régions méditerranéennes (**Ladizinsky, 1987**). Actuellement, on peut distinguer trois grandes zones de production de pois chiche dans le monde, le bassin méditerranéen, le Sud de l'Asie et l'Amérique du Sud (**Bouchez, 1985**).

I.3.2. Taxonomie et caractéristique botaniques

I.3.2.1. Classification

Le pois chiche appartient au genre *Cicer* à la classe des Dicotylédones, à la sous-classe des Dialypétales, l'ordre des rosales, famille de Fabaceae, la sous-famille des Papilionaceae, Règne : Plantae et à la section Monocicer (**Bock, 2009**).

I.3.2.2. Description botanique

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est une espèce herbacée, annuelle, diploïde ($2n = 16$ chromosomes), autogame, présentant moins de 1% d'hybridation naturelle (**Singh et Reddy, 1991**).

Le système racinaire mixte, dont la croissance s'arrête au démarrage de la floraison, permet à la plante d'explorer un grand volume de sol et lui confère une tolérance à la sécheresse (**Slama, 1998**). Il est composé d'une racine principale pivotante qui peut atteindre 1m de profondeur et des racines secondaires traçantes. La profondeur de l'enracinement dépend des techniques culturales, de l'état et de la nature du sol. En effet, la semelle du labour peut entraver

l'élongation de la racine principale. Dans les zones humides, les sols salins, lourds, stagnants et à réchauffement lent au printemps, les racines ont un développement limité et la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique est réduite (**Jaiswal et Singh, 2001**).

Les nodules, développés sur les racines, permettent la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique pour satisfaire 80% des besoins de la plante en azote assimilable.

- Les feuilles ont la forme imparipennée (**Poitier, 1981**) et sont composées de 7 à 15 folioles ovales et dentelées, sans vrilles, en position alternée sur un rachis (Figure 2) (**Saxena, 1984**). Les faces inférieures des feuilles sont couvertes par un duvet formé de poils unis et pluricellulaires.

- La tige est herbacée. Selon les génotypes de pois chiches, à une certaine hauteur, la tige se ramifie en deux ou trois branches pour donner des ramifications secondaires et par la suite des ramifications tertiaires (Figure 2) (**Braune et al, 1988**).

- Les fleurs sont zygomorphes, articulées, solitaires ou en grappe de deux fleurs (Figure 3). Elles s'insèrent sur des pédoncules axillaires à l'aisselle des feuilles. L'apparition des premières fleurs dépend de plusieurs facteurs tels que la précocité de la variété, la date et la densité du semis et des techniques culturales. Toutefois, comme le pois chiche est une espèce à croissance indéterminée, sous des conditions hydriques favorables et des températures clémentes, les branches continuent à se développer, à fleurir et à produire des gousses et des grains (**Leport et al, 2006**). Les premières fleurs, dites pseudo-fleurs ou fausses fleurs, sont imparfaites et ne donnent pas de gousses (**Roberts et al, 1980**).

- Le fruit est une gousse de forme globuleuse, renflée, ovale, velue, pendante et portant un bec (**Ladizinsky, 1987**). Elle peut comporter 1 à 3 grains qui peuvent être lisses ou ridés, arrondis ou irréguliers. La germination est hypogée (**Sassene, 1989**), la partie aérienne sécrète une solution composée de 94.2% d'acide malique, 5.6% d'acide oxalique et 0.2% d'acide acétique (**Van Der-Maesen, 1972**). La longueur du cycle du pois chiche dépend de la chaleur et de l'humidité disponible dans le sol. La récolte peut avoir lieu si l'humidité des grains est de l'ordre de 18% (**Jaiswal et Singh, 2001**).

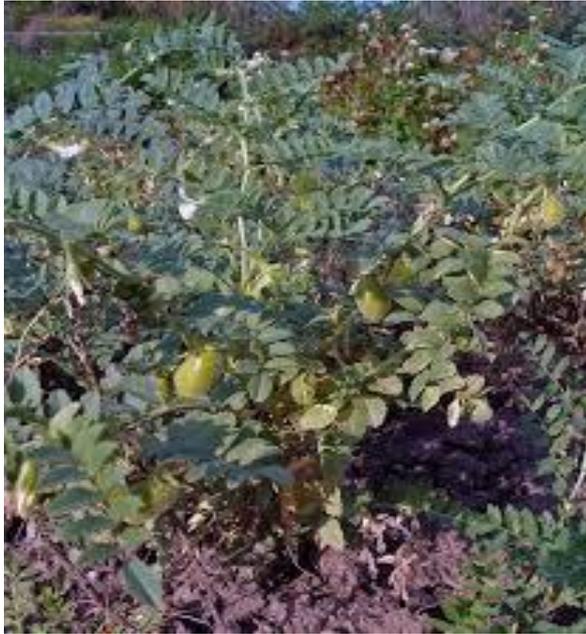


Figure 2 : pois chiche (*Cicer arietinum* L.)



Figure 3 : La fleur de pois chiche

I.3.3. Caractéristiques agronomiques

I.3.3.1. Les exigences climatiques

* Température

La température exerce une forte influence sur les phases végétatives et reproductrices de pois chiche (Summerfield et al, 1979). Une température ambiante, variant de 20 à 30 °C le jour et de l'ordre de 20 °C la nuit, assure un bon développement végétatif du pois chiche. Au moment du semis, la température du sol doit être supérieure à 10 °C. En fait, un sol relativement chaud permet une réduction de l'exposition des semences aux maladies, une germination des graines et une émergence des plants rapides (Jaiswal et Singh, 2001).

* La pluviométrie

Par comparaison aux autres espèces de la tribu des Viciées, le pois chiche, grâce à son système racinaire profond, est doté d'une certaine rusticité et d'une bonne tolérance à la sécheresse (Verghis et al, 1999). D'après Wery et al, (1994), une consommation en eau de 100 à 150 mm confirme que le pois chiche est doté d'une bonne capacité à extraire l'eau stockée dans le sol. La phase critique pour les besoins en eau est située entre la fin floraison et le stade laiteux (Verghis et al, 1999).

Pacucci et al, (2006) ont indiqué que dans les zones de faibles précipitations, il est possible d'obtenir de bons rendements en choisissant les cultivars les plus adaptés à la sécheresse. Saxena (1987) a remarqué, avec une dose d'irrigation qui varie de 110 à 240 mm, que le

rendement en graines passe de 0,9 et 3 t.ha-1 respectivement. Pour une culture de printemps, les besoins hydriques sont de 297 mm dans les zones arides et de 413 mm dans les zones humides ; alors que pour une culture d'hiver, les besoins hydriques dans les zones arides et dans les zones humides sont respectivement de 311 et 432 mm (**Saxena, 1987**). Il a été établi aussi que le pois chiche consomme la majeure partie de son eau dans les soixante premiers centimètres du sol (**Keating et Cooper, 1983**).

* **Lumière**

Le pois chiche est considéré comme une plante de jours longs (**Summerfield et al, 1979**). L'intensité de la lumière et la durée d'éclairement sont des facteurs importants pour la nodulation et la fixation d'azote (**Lie, 1971**).

Les photopériodes prolongées et les températures élevées accélèrent les phases de développement végétatif et reproducteur (**Summerfield et al, 1984**).

* **Les exigences édaphiques**

Le pois chiche semble préférer les sols meubles, profonds, plus ou moins argileux avec une bonne capacité de rétention (**Moolani et Chandra, 1970**), il ne supporte pas les sols mal drainés qui favorisent le développement des maladies cryptogamiques (**Plancquaert et Wery, 1991**). Les sols très calcaires sont à exclure, car ils donnent des graines qui cuisent mal. Le pois chiche supporte mal les sols salins. Le pH du sol favorable à cette culture se situe entre 5,7 et 7 (**Mahler et al, 1998**).

I.3.4. Importance du pois chiche

Comme toutes les autres légumineuses à graines, le pois chiche occupe une importante place économique, agronomique et alimentaire (**Kamel, 1990**).

I.3.4.1. Importance alimentaire

A travers le monde, le pois chiche est considéré comme un aliment de base (**Berger et al, 2003**) en raison de la grande valeur alimentaire de ses graines (**Pacucci et al, 2006**). Cette culture est destinée, en sa majeure partie, à la consommation humaine et le reste est utilisé comme fourrage pour le bétail (**Upadhyaya et al, 2001**). Il est dépourvu de tout facteur antinutritionnel et a une composition alimentaire très riche en protéines digestibles (**Wood et Grusak, 2007**). Le tableau (4) présente la composition chimique du pois chiche

Tableau 4 : Composition chimique et minérale du pois chiche (Icrisat, 2008)

Composition organique (en%)	Composition minérale (en mg /100g)		
Protéines	23	Phosphore	340
Carbohydrates totaux	64	Calcium	190
Amidon	47	Magnésium	140
Lipides	5	Fer	7
Fibres grossières	6	Zinc	3
Sucres solubles	6		
Matière minérale	3		

I.3.4.2. Importance agronomique

Dans les régions semi-arides du bassin méditerranéen où les ressources en eau sont en constante régression, les agriculteurs se rendent compte, de plus en plus, du rôle appréciable que jouent les légumineuses à graines dans la fertilisation organique du sol (Pacucci et al, 2006). En effet le pois chiche peut, grâce à sa capacité à fixer biologiquement l'azote atmosphérique via la symbiose rhizobienne, subvenir à environ 90% de ses besoins en cet élément. Les quantités fixées peuvent dépasser (dans certains cas) 400 kg d'azote/ha/an (Obaton, 1992). Une grande partie de cet azote est restitué au sol après incorporation des résidus de récolte.

De par ses caractéristiques, la culture du pois-chiche maintient pour une longue durée la fertilité du sol et se place comme un atout majeur dans toutes les stratégies de gestion durable en agriculture (Icrisat, 2008).

I.3.5. La production du pois chiche

A. La production dans le monde

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est l'une des plus importantes légumineuses à graines dans le monde il occupe la troisième position (FAO, 2015). (Tableau 5)

D'après l'AAC (2006), entre 1998 et 2006, le rendement moyen en graines du pois chiche est de 800 kg.ha-1. Le continent Asiatique est le plus important producteur de pois chiche avec un taux de 91% (Upadhyaya et al, 2001). Par ailleurs, les plus grands pays producteurs de cette

espèce sont : l'Inde, la Turquie, le Pakistan, l'Australie, le Canada, le Mexique, l'Iran et l'Ethiopie (AAC, 2012).

Les plus grands pays exportateurs de pois chiche sont : l'Australie, le Mexique, la Turquie, le Canada, les Etats-Unis et l'Iran ; alors que les plus importants pays importateurs sont : l'Espagne, l'Algérie, le Bangladesh, l'Italie, l'Arabie saoudite, la Jordanie, la Tunisie et le Royaume-Uni (AAC, 2006).

Tableau 5 : Production du pois chiche en tonnes (T) dans le monde (FAOSTAT, 2015)

Pays	Production (T) 2010	Production (T) 2011	Production (T) 2012	Production (T) 2013	Production (T) 2014
Inde	7480000	8220000	7700000	8832500	9880000
Pakistan	561500	496000	291000	751000	750,000
Turquie	530634	487477	518000	506000	450,000
Australie	602000	513338	673371	813300	817,200
Myanmar	441493	473102	500000	490000	492,300
Ethiopie	322839	400208	409733	249465	458,682
Iran	267768	315000	295000	290243	275,310
Mexique	131895	72143	271894	209941	171,665
Canada	128300	90800	161400	169400	123,000
Syrie	42928	50052	55913	57500	
Monde	11064328	11750103	11613037	13102023	13623695

B. La production en Algérie

Le pois chiche est, en Algérie, la seconde légumineuse alimentaire produite après les fèves (MADR, 2015). Sa culture a connu, durant la décennie 1980- 90 une certaine évolution progressive sur le plan des superficies et de la consommation et une évolution régressive en terme de productivité. Les causes de la faiblesse de la productivité du pois chiche en Algérie sont souvent d'ordres agro-techniques liés aux conditions de semis (période, modes de semis, qualité de la semence) et à l'infestation par les adventices. Le tableau (6) présente la production du pois chiche pour les 5 wilayas les plus productives ainsi que la production total en Algérie durant la période 2010-2014.

Tableau 6 : Production du pois chiche en Algérie (MADR, 2015).

année (ha)	Wilaya	Superficie	Production (qx)	Rendement (qx/ha)
2010	A.TEMOUCHENT	6120	58300	9.5
	TLEMCEN	5228	42000	8.0
	MASCARA	3200	30070	9.4
	SKIKDA	1048	16500	15.7
	CHLEF	1655	15985	9.7
	TOTAL ALGERIE	25525	234737	9.2
2011	A.TEMOUCHENT	6795	57575	8.5
	TLEMCEN	5319	40000	7.5
	MASCARA	2700	22530	8.3
	GUELMA	1696	19741	11.6
	S.B.ABBES	1429	16347	11.4
	TOTAL ALGERIE	27734	240512	8.7
2012	A.TEMOUCHENT	8,080	66,280	8.2
	TLEMCEN	5,620	39,100	7.0
	MASCARA	2,460	24,450	9.9
	GUELMA	2,163	23,546	10.9
	MOSTAGANEM	2,039	21,810	10.7
	TOTAL ALGERIE	30,562	276,750	9.1
2013	TLEMCEN	5,350	73,000	13.6
	A.TEMOUCHENT	6,195	66,270	10.7
	GUELMA	2,214	29,947	13.5
	MOSTAGANEM	2,340	27,291	11.7
	CHLEF	1,852	22,530	12.2
	TOTAL ALGERIE	29,320	349,802	11.9
2014	TLEMCEN	7,000	73,500	10.5
	A.TEMOUCHENT	6,490	56,526	8.7
	GUELMA	2,430	31,940	13.1
	MASCARA	2,640	31,700	12.0
	MOSTAGANEM	2,500	28,792	11.5
	TOTAL ALGERIE	33,295	351,178	10.5

Partie II.
Expérimentale

Chapitre 1.
Matériel et Méthodes

II.I. Matériel et Méthodes

II.1.1. Objectif du travail

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet du cuivre sur la germination et la croissance ainsi que l'effet combiné du cuivre et du plomb sur la croissance de pois chiche (*Cicer arietinum* L). Pour mieux apprécier la tolérance ou la résistance aux stress métallique, le taux de germination et la biométrie des parties aériennes et souterraines ont été évalués

II.1.2. Site d'étude (Site expérimental)

L'étape de germination a été effectuée au niveau de laboratoire de Botanique à l'Université de Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (Figure 4). Tandis que l'étape de croissance a été réalisée dans la ferme située à Sidi Lakhdar (Mostaganem)



Figure 4 : présentation de la Faculté des sciences de la nature et de la vie (Université de Mostaganem).

II.1.3. Matériel végétal

Le matériel biologique choisi pour l'étude est le pois chiche. Son nom scientifique est *cicer arietinum* L de la famille des Fabaceae (légumineuses) (Figure 5). Les graines ont été achetées dans un magasin de vente des produits agricoles en Mars 2022, (Figure 6).

Classification botanique :

Règne : Plantae.

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Spermatophyta

S/Embranchement : Magnoliophyta .

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : rosidae.

Ordre : fabales.

Famille : Fabaceae

Genre : *Cicer*.

Espèce : *Cicer arietinum L.*

Nom commun : pois chiche.
(USDA, 2008).



Figure 5 : La plante de pois chiche (*Cicer arietinum L.*)

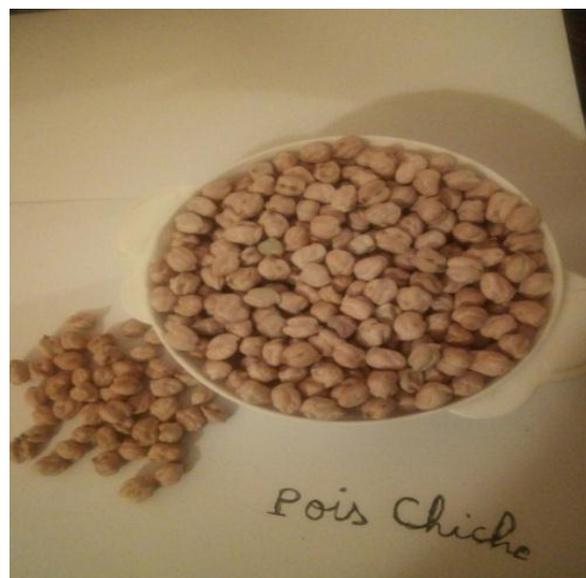


Figure 6 : Les graines de *Cicer arietinum L.*

II.I.4. Protocole expérimental

A. Germination

❖ Traitement des graines

Les graines de *Cicer arietinum* d'une taille moyenne ,ont été lavées avec l'hypochlorite de sodium à 8° pendant 10 min pour éliminer toute contamination fongique, puis rincées abondamment avec de l'eau distillée 03 fois pour supprimer toutes traces de l'hypochlorite de sodium. Pour faciliter la germination, les graines sont imbibées dans de l'eau distillée pendant 24 heures (Figure 7)



Figure 7 : Rinçage et trempage des graines dans l'eau distillée après traitement

❖ Préparation des solutions métalliques

Pour préparer une solution aqueuse de sulfate de cuivre (Cu SO_4), de différentes concentrations (100, 300, et 500 ppm), et de nitrates de plomb $\text{Pb (NO}_3)_2$ de 150 ppm ainsi que des concentrations combinées de Cu/Pb (300/150ppm), il y a deux méthodes : par dissolution de cristaux ou par dilution d'une solution concentrée initiale.

Les métaux lourds ont été utilisés sous forme de sel de métal donc les concentrations citées dans le tableau ci-dessous ont été calculées selon la formule suivante :

$$[C2] = \frac{Mm \text{ sel} \times [C1]}{Mm \text{ métal}}$$

[C2] : la concentration calculée pour la préparation de la solution d'irrigation

[C1] : la concentration prise pour notre étude en ppm.

Mm : la masse molaire du métal

Mm sel : la masse molaire du sel du métal

Tableau 7 : les concentrations des solutions préparées pour l'irrigation à partir d'un poids initial de sel de métal

Stress appliqué	Doses appliquées	
Stress métallique (Cu)	0 ppm	0 g/L
	100 ppm	0,4 g/L
	300 ppm	1,2 g/L
	500 ppm	2 g/L
Stress combiné (Cu +Pb)	150+ 300 ppm	0,24 +1,2 g/L

❖ Mise en germination

Après avoir été stérilisées, les graines de *Cicer arietinum L* ont été mises à germer dans des boîtes de Pétri de 19 cm de diamètre, munies d'une couche de papier filtre stérile à raison de 21 graines par boîte et trois répétitions par traitement (Figure 8). Chaque boîte a reçu 10 ml de l'eau distillée pour les graines témoins et le même volume pour les graines stressées par le Cuivre à différentes concentrations (100, 200, et 300 ppm). Ensuite les boîtes ont été placées à l'obscurité dans une étuve réglée à une température de 25°C (Figure 9). Les graines germées ont été comptées toutes les 24 h durant dix jours, et la moyenne des pourcentages de germination et de l'inhibition de germination a été calculée à base de trois répétitions par test.

Le critère de la percée de la radicule a été adopté pour évaluer la germination des graines. Dès que la radicule des graines de couleur blanchâtre sort hors du tégument, la graine est comptabilisée comme étant une graine germée. Ces dénombrements sont répétés chaque jour pendant toute la durée de l'expérimentation

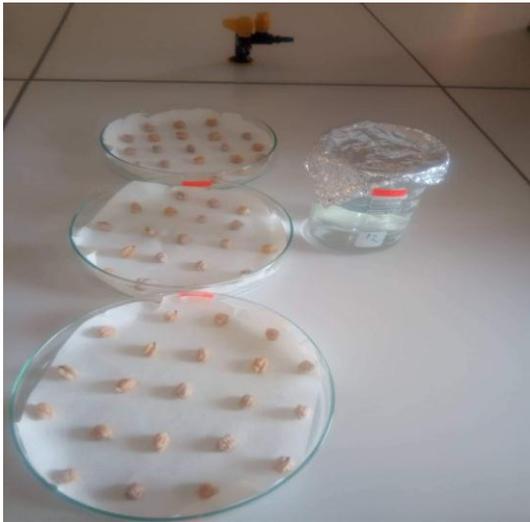


Figure 8: Dispositif expérimental de germination



Figure 9 : Condition de germination de *Cicer arietinum.L.* (Etuve 25C°)

❖ Paramètres analysés

• Taux de germination final

Le taux de germination final a été calculé par le rapport du nombre de graines germées sur le nombre total de graines. Le résultat est rapporté à 100 (**Tanveer et al, 2010**).

$$\text{T G (\%)} = \frac{\text{Graines germées}}{\text{Nombre total des graines utilisées}} \times 100$$

• Cinétique de germination

Il s'agit de calculer chaque jour la vitesse de germination sous les différentes concentrations métalliques. Elle est exprimée par le nombre de graines germées à 24, 48, 72 et 96 h jusqu'à la fin de germination après le début de l'expérience

Elle est exprimée en pourcentage quotidien de graines germées par rapport au nombre total de graines par boîte de pétri (%) (**Mazlik, 1981**).

• Le taux de germination relatif (TGR)

Correspond au taux (%) des graines stressées par le métal par rapport aux taux des graines témoins (%)

$$\text{TGR} = \frac{\text{Pourcentage de germination des graines traitées}}{\text{Pourcentage de germination des graines témoins}}$$

B. La croissance

❖ Préparation du milieu de transplantation

Le sol constitué de substrat de culture a été prélevé de la ferme, il est tamisé avec un tamis de 2 mm afin d'éliminer les différents débris végétaux et animaux, pour obtenir une structure fine.

❖ Préparation des pots de culture

Nous avons préparé des pots de culture d'une capacité de 3 kg de sol ; et d'un diamètre supérieur maximum de 20 cm. Les pots utilisés pour les expérimentations ont bien été lavés et séchés puis remplis de sol de culture. Ils sont répartie en 5 niveaux de traitement : lot témoin, 3 lots traités par le cuivre (100 ppm, 300 ppm et 500 ppm) et un lot réservé au traitement par le stress combiné Plomb / Cuivre (150 ppm / 300 ppm) . Chaque niveau de traitement est constitué de trois pots représentant les trois répétitions

❖ Préparation de Sol de culture traité par le métal

Pour la série des pots de test de croissance avec le stress métallique, nous avons prélevé de chaque pot 100 g de sol que nous avons mis dans des gobelets. Ces sol ont été traité avec la concentration métallique (100, 300, 500 ppm) et le traitement combiné à sec (solide- solide). Ensuite nous avons irrigué ces gobelets avec de l'eau distillée jusqu'à saturation puis laisser sécher à l'air libre. Après 72 h, les sols des gobelets et après une dessiccation complète, ont été renversés dans une grande bassine en ajoutant la quantité du sol restante et après avoir bien mélangé les sols stressés à sec, le contenu des sols est remis dans les pots de croissance (Figure 10). L'ensemble des séries des pos a été irrigué à l'eau de robinet jusqu'à la capacité au champ puis ont été conservé dans la ferme pour l'étude de la croissance



Figure 10 : Traitement de Sol de culture par le métal

❖ **Etape de préparation des semences**

- Des graines de *Cicer arietinum* L ont été mises à germer dans des gobelets sur sol agricole non stressé par le métal prélevé de la ferme à raison de deux graines par gobelet et irriguées à l'eau de robinet (Figure11)
- Après huit jours de germination, les semences étaient prêtes à la transplantation dans les pots de croissances que nous avons préparé préalablement à raison de deux plantules par pot. La transplantation des semences a été réalisée délicatement afin de ne pas abimer les apex caulinaires et radiculaires
- En parallèle un lot de pots est préparé avec le sol agricole en absence du métal et réservé comme témoin pour l'étude comparative des résultats de la croissance de la plante.



Figure 11 : Préparation des semences de *Cicer arietinum* L

Après transplantation des semences (pots témoin et pots tests), la croissance des plantules a été étalée jusqu'à 6 semaines de croissance et l'irrigation a été faite à l'eau de robinet. Chaque 48 h la biométrie des tiges est calculée et le nombre de feuilles est compté.

Chapitre 2.
Résultats et Interprétations

II.2. Résultats et interprétations

Le recours aux méthodes biologiques telle que la germination et la croissance présente un avantage de réponse adaptée. Ces méthodes s'avèrent complémentaires aux analyses chimiques et biochimiques vu qu'elles permettent d'évaluer de façon relativement simple l'action directe des polluants métalliques sur l'organisme végétal

Le but de cette étude est de déterminer la phyto-toxicité par le cuivre à différentes concentrations des graines de pois chiche au moyen de test de germination in vitro sur papier filtre et l'effet du cuivre et combiné du plomb et du cuivre par des tests de croissance. Ces tests ont été réalisés sur des plantules transplantées en pots après une étape germinative préalable sur sol agronomique.

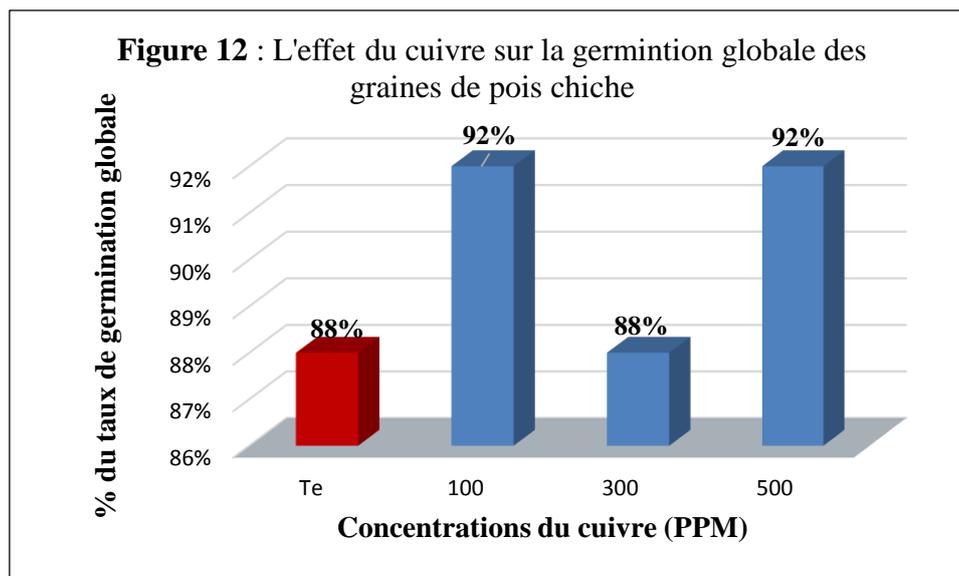
L'ensemble des résultats obtenus permettra de révéler le comportement de l'espèce mise à l'étude vis-à-vis des différentes doses des métaux mis à l'exposition. Les résultats du pouvoir germinatif, et de la croissance des parties aérienne et souterraines sont présentés dans les figures (de 12 jusqu'au 27)

II.2.1. Effet sur la germination

II.2.1.1. Effets du cuivre sur la germination des graines *Cicer arietinum L*

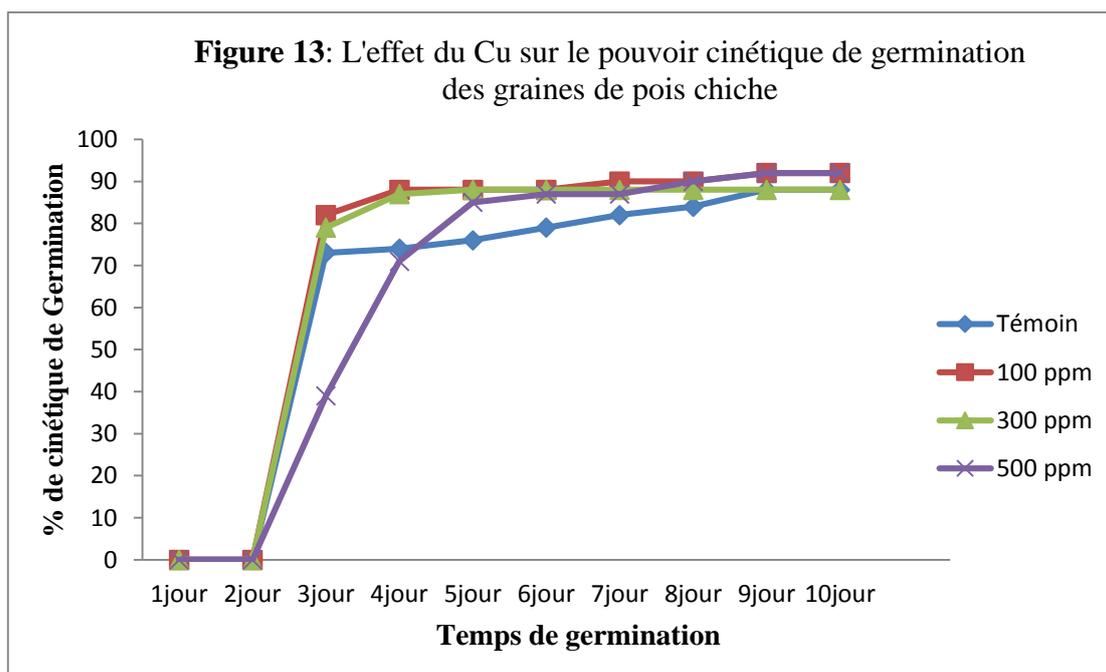
A. L'effet sur le taux de germination

Les résultats du test de germination révèlent que les graines de *Cicer arietinum* germent positivement sous le stress métallique du cuivre. Le pouvoir germinatif est accéléré à partir du troisième jour de la germination et qui diffère selon les concentrations du cuivre. Nous avons enregistré au dixième jour du test un taux maximal de germination de 92% pour les concentrations de 300 ppm et 500 ppm dépassant ainsi celui du témoin (88%), avec un taux d'inhibition de germination de 8% et 12% respectivement (Figure 12)



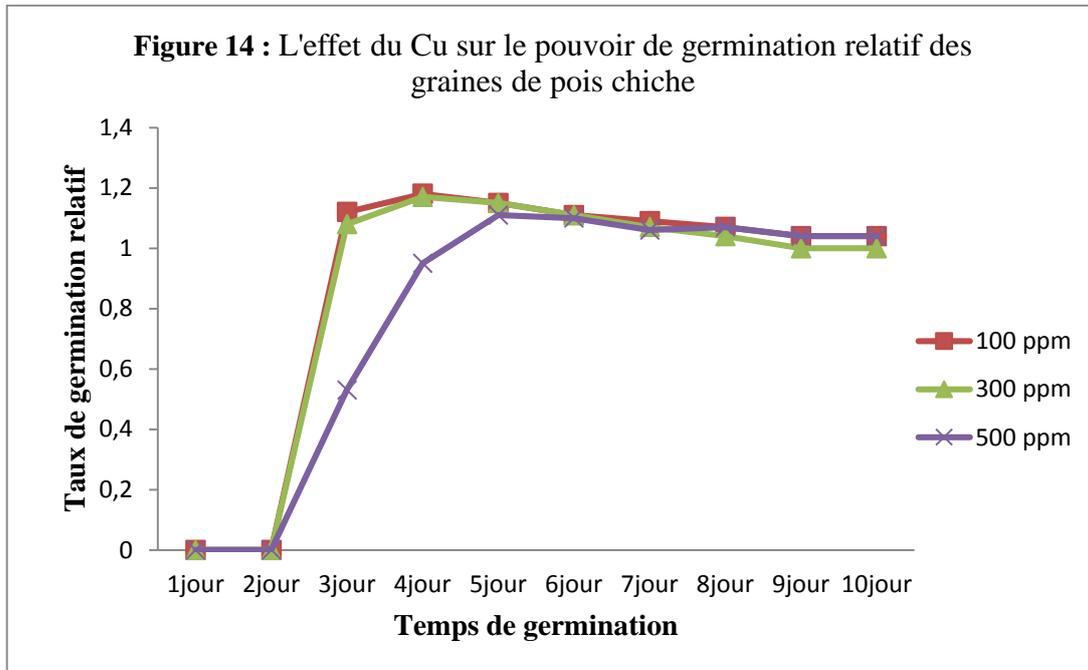
B. L'effet du cuivre sur la cinétique de germination

Les résultats obtenus montrent que les taux quotidiens de germination des graines augmentent en fonction de la durée de germination pour le témoin et les graines stressées par le cuivre (Figure 13). Cette cinétique est accélérée à partir du quatrième jour. Nous avons noté un ralentissement du processus de germination au cinquième jour pour atteindre une phase latente qui dure jusqu'au dixième jour de germination pour atteindre un pouvoir de germination maximal de 92% à 100 ppm et 500 ppm de cuivre contre 88% chez le témoin. Globalement l'ensemble des graines testées ont germé positivement et ne sont pas affectées par le stress métallique du cuivre.



C. L'effet du cuivre sur le taux de germination relatif (TGR)

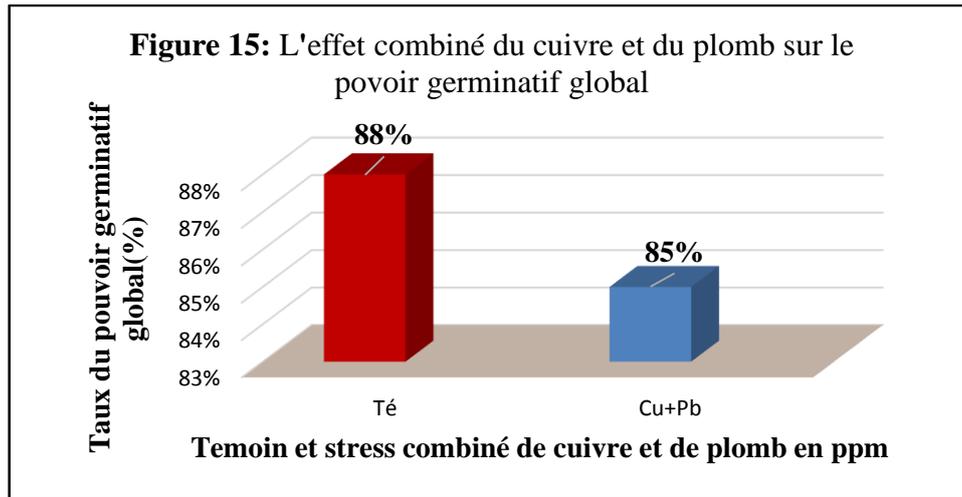
Les résultats correspondant au taux relatif de germination du troisième jour jusqu'au dixième jour de germination est entre [1,12 - 1,04] ; [1,08- 1] et [0,53-1,04] pour les concentrations de 100 ,300 et 500 ppm respectivement (Figure 14). Cela montre que l'effet du cuivre à différentes concentrations ne réduit pas la vitesse relative de germination des graines de *cicer arietinum*



II.2.1.2. Effet combiné de stress métallique du Cuivre et de Plomb sur la germination des graines de *cicer arietinum* .

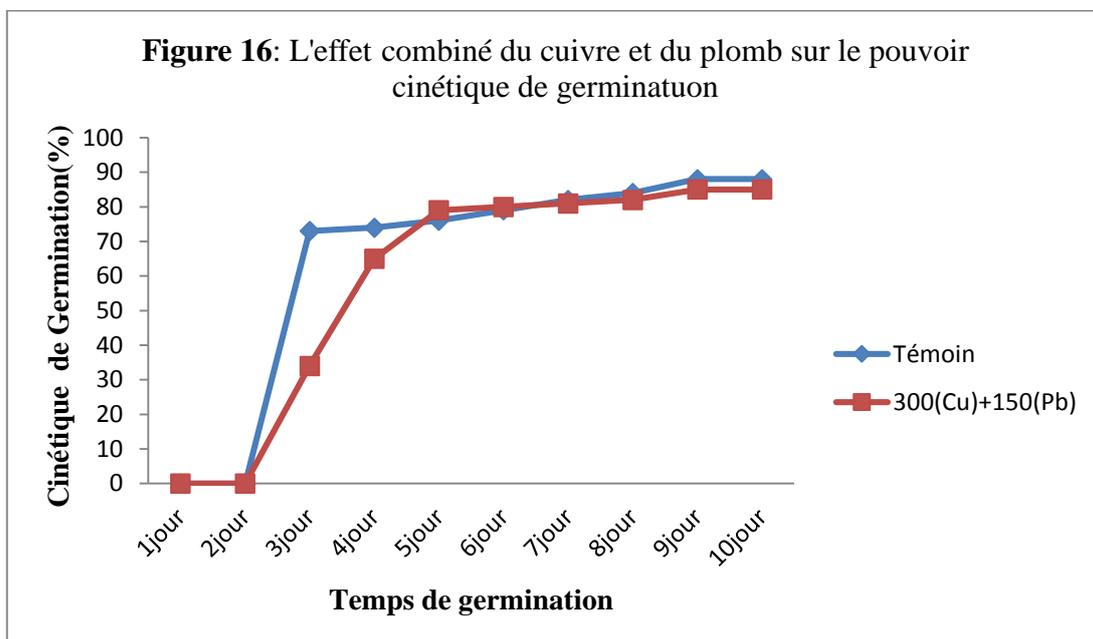
A. L'effet combiné sur le taux de germination

Les résultats montrent que les graines de la plante de pois chiche ont germé positivement. Le pouvoir germinatif global du test stressé par la combinaison du cuivre et de plomb à la dose de 300 ppm Cu+150 ppm Pb est faible par rapport au témoin (Figure 15) et moins important en le comparant au test de germination soumis au stress de Cu dont les valeurs enregistrées sont 85% (test, Cu/Pb) et 88% (test Cu). Cela confirme la sensibilité de la germination des graines de la plante au plomb



B. L'effet combiné du Cu et de Pb sur la cinétique de germination

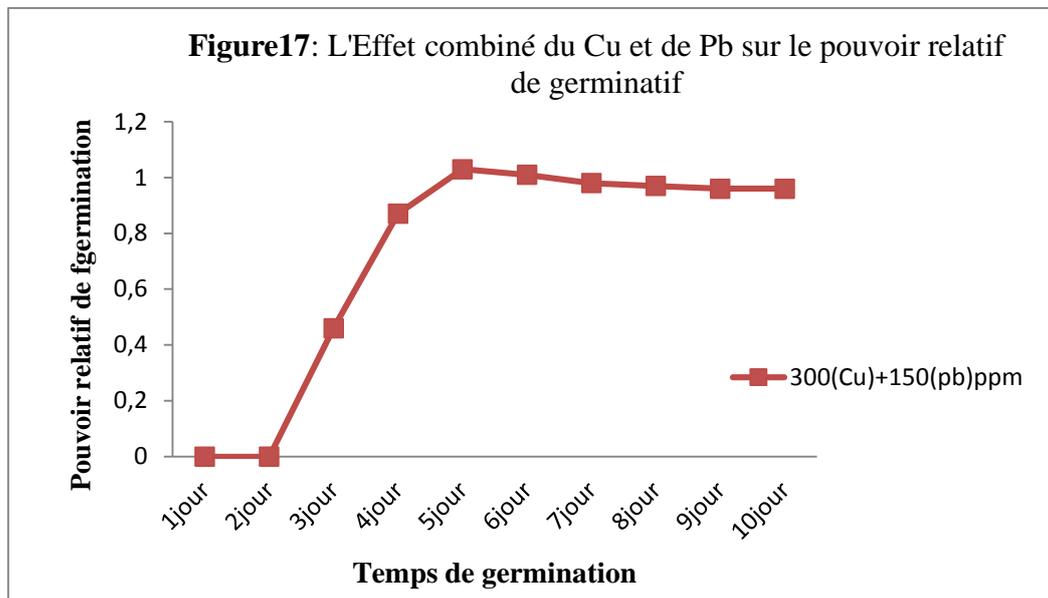
Les graines traitées par le stress métallique combiné de Cuivre et de plomb germent moins rapidement que le témoin et atteignent un taux de germination maximal de 85% le 10^{ème} jour avec une phase accélérée au quatrième jour et une phase latente à partir du cinquième jour (Figure 16). Nous avons noté une cinétique moins importante que celle enregistrée chez les graines traitées par le cuivre.



C. L'effet combiné du cuivre et de plomb sur le pouvoir relatif de germination

Les résultats correspondant au taux relatif de germination du troisième jour au dixième jour de germination des graines traitées par le Cu combiné au Pb est entre [0,46- 0,96] (Figure 17). Cela

montre qu'il existe une réduction de la vitesse relative de germination des graines de *cicer arietinum*. Ce qui révèle une sensibilité de la germination vis-à-vis du plomb



(1)



(2)

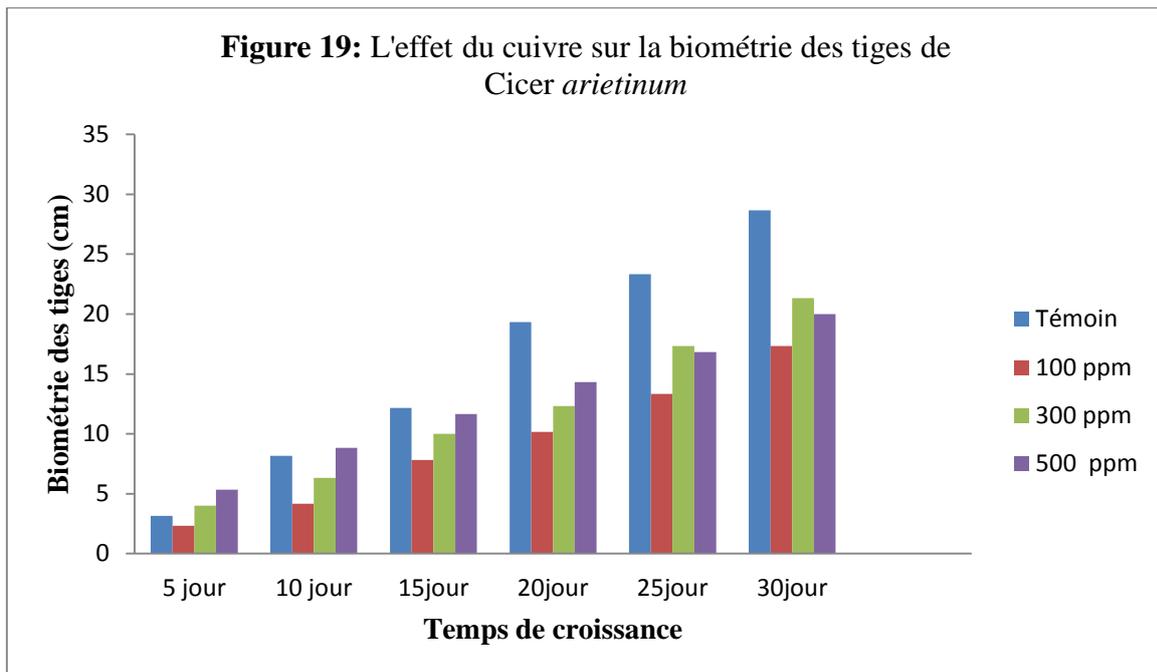
Figure 18 : (1) Germination des graines de stress métallique(Cu)
(2) stress combiné (Cu+Pb)

II.2.2. Effets du cuivre sur la croissance de *Cicer arietinum*

Les résultats de la croissance de *cicer arietinum L* ont été basés sur l'étude comparative entre à la fois le témoin, la plante qui a subi un stress métallique de Cuivre et un stress combiné (Cu, 300 ppm + Pb, 150 ppm). Les figures (de 17 jusqu'au 25) résument l'ensemble des résultats

A. Effets du Cuivre sur la biométrie des tiges

Par rapport au témoin, ou la longueur des tiges maximale est estimée à 28 cm, les plantules de *cicer arietinum L* présentent une diminution de la longueur des tiges après 30 jours d'exposition à différentes concentrations de Cu (100,300, et 500ppm) avec des valeurs de biométrie moyennes maximales de 17,33, 21,33 et 20 cm respectivement .Ces résultats montrent que le stress métallique exerce une sensibilité sur la croissance des tiges de *Cicer arietinum. L*. Cette sensibilité est marquée à partir du vingtième jour (Figure 19)



B. L'effet combiné (Cu+Pb) sur la biométrie des tiges

L'effet combiné (Cu+ Pb) a légèrement diminué la sensibilité de la plante vis-à-vis du cuivre. En effet à 30 jours de croissance nous avons enregistré une biométrie moyenne de la tige de 24 cm (Figure 20) contre 21cm (Cu300ppm). Ces valeurs restent toujours inférieures par rapport au témoin. Cela montre que malgré cette diminution de sensibilité, les tiges de la plante sont affectées

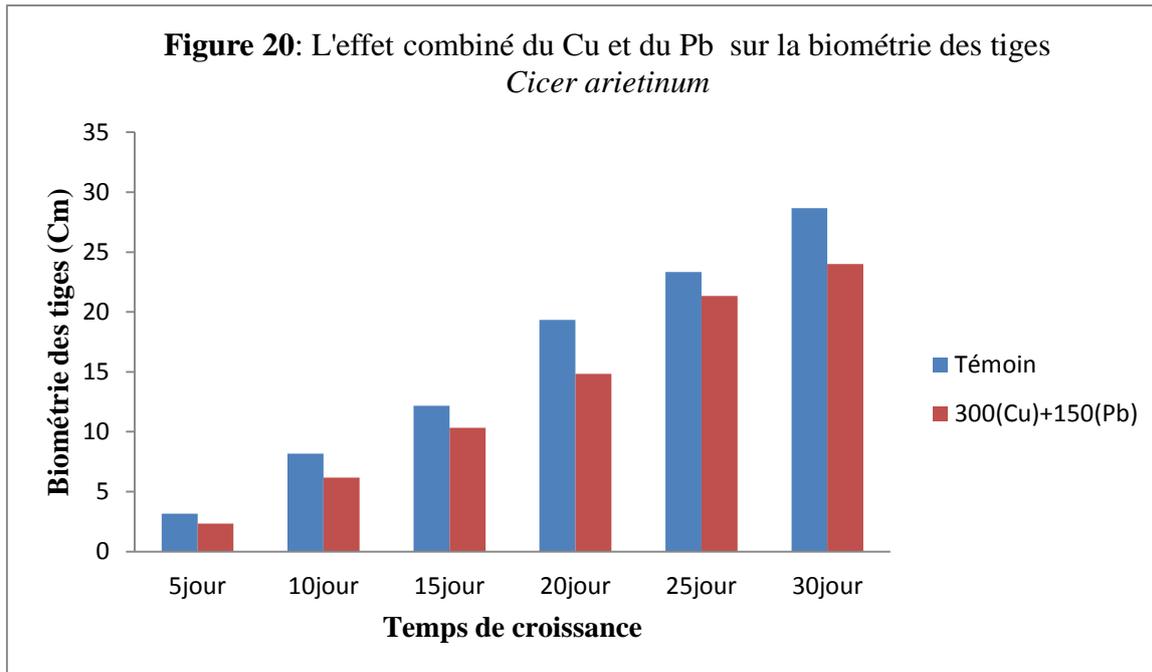


Figure 21 : *Cicer arietinum* après 30 jours de croissance sous stress combiné (Cu +Pb)

C. L'effet du cuivre et effet combiné du (cuivre + plomb) sur le nombre des feuilles de *Cicer arietinum L* (durée de quatre semaines de croissance)

Le nombre de feuilles a été compté en même temps que la biométrie des tiges et les résultats des figures (22 et 23) (un mois de croissance) montrent que les feuilles se développent avec la croissance en longueur du pois chiche pour atteindre un nombre maximal moyen de 11 feuilles chez le témoin. Ces valeurs sont de l'ordre de 17, 20 et 14 feuilles chez le pois chiche soumis à des concentrations de 100,300,et 500 ppm respectivement (cuivre) et un nombre

moyen de 12 feuilles pour les concentrations combinée de dose 300ppm(Cu)+150(Pb) ppm. Nous avons noté une résistance de croissance foliaire de la plante (figure 22) pour les deux tests par rapport au témoin. Cette résistance est atténuée vis-à-vis du test combiné par rapport au test de Cu. Cela confirme l'effet combiné du plomb avec le cuivre sur la croissance des feuilles

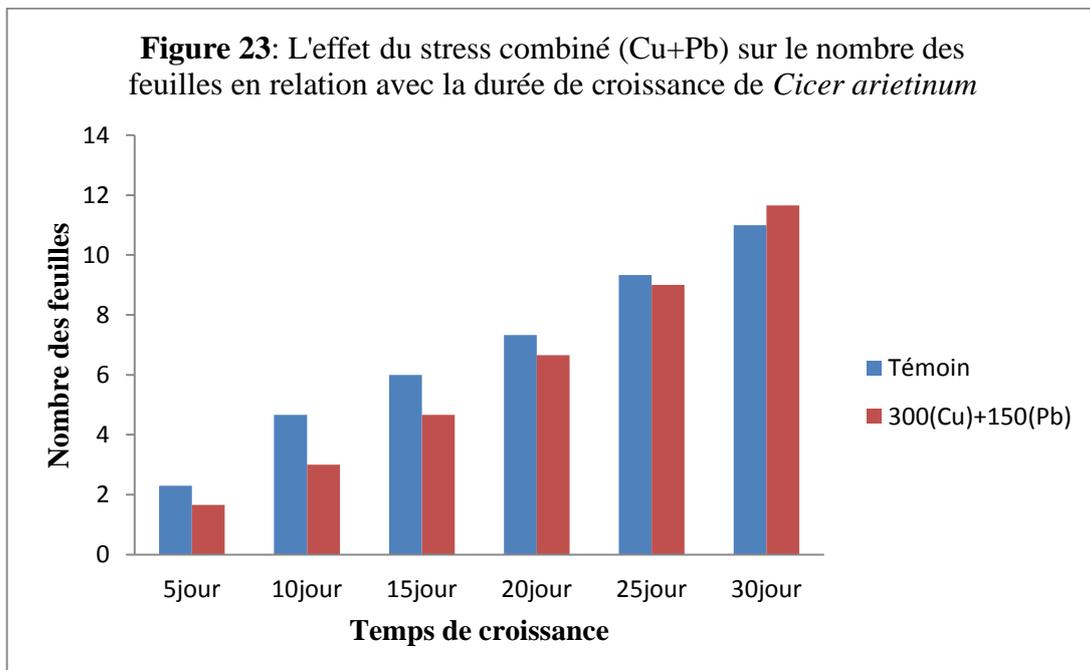
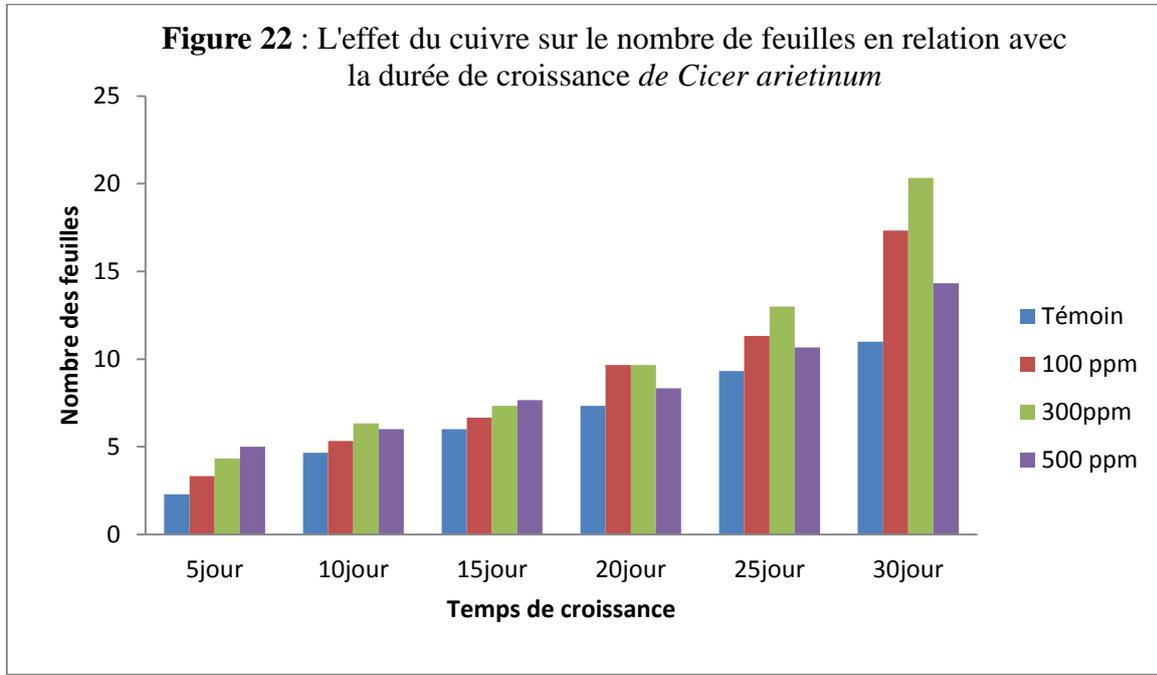




Figure 24 : Croissance foliaire de *Cicer arietinum* L
(Stress Cu, croissance de 30jours)

II.2.3. Effet du cuivre et effet combiné du (cuivre + plomb) sur la biométrie des racines de *cicer arietinum* L

La croissance des racines de *Cicer arietinum* L a été évaluée par le calcul de la biométrie moyenne à 30 jours de croissance. Les résultats de la figure (25) montrent que chez les plantes stressées par le cuivre, la biométrie la plus basse des racines est enregistrée pour les concentrations de 500 ppm (4cm). Cependant la croissance des racines est révélée plus importante pour les concentrations en Cu de 100 ppm (13,5) suivie de 300 ppm (15cm), dépassant ainsi la biométrie enregistrée au niveau des témoins (8 cm). Nous constatons que les racines de cette plante sont sensibles aux concentrations de cuivre élevées (500 ppm). Cette différence de croissance est peut être en relation avec la mobilité et la spéciation de d'autres éléments métalliques au niveau du sol et que les concentrations faibles en cuivre sont favorables pour la croissance des parties souterraines.

L'effet combiné du cuivre et du plomb a ralenti la croissance des racines en effet les valeurs moyennes de la biométrie des racines sont inférieurs aux celles enregistrées chez le témoin, (6,5 cm contre 8cm) (Figure 26). Cela confirme la sensibilité du système racinaire de *Cicer arietinum* à la présence du plomb dans le sol.

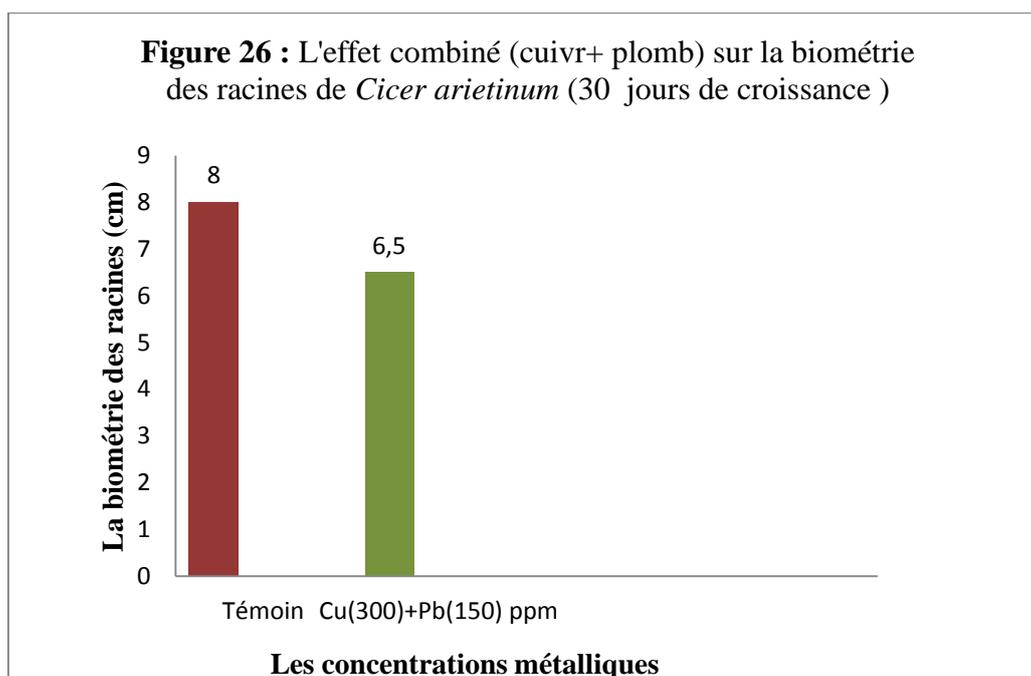
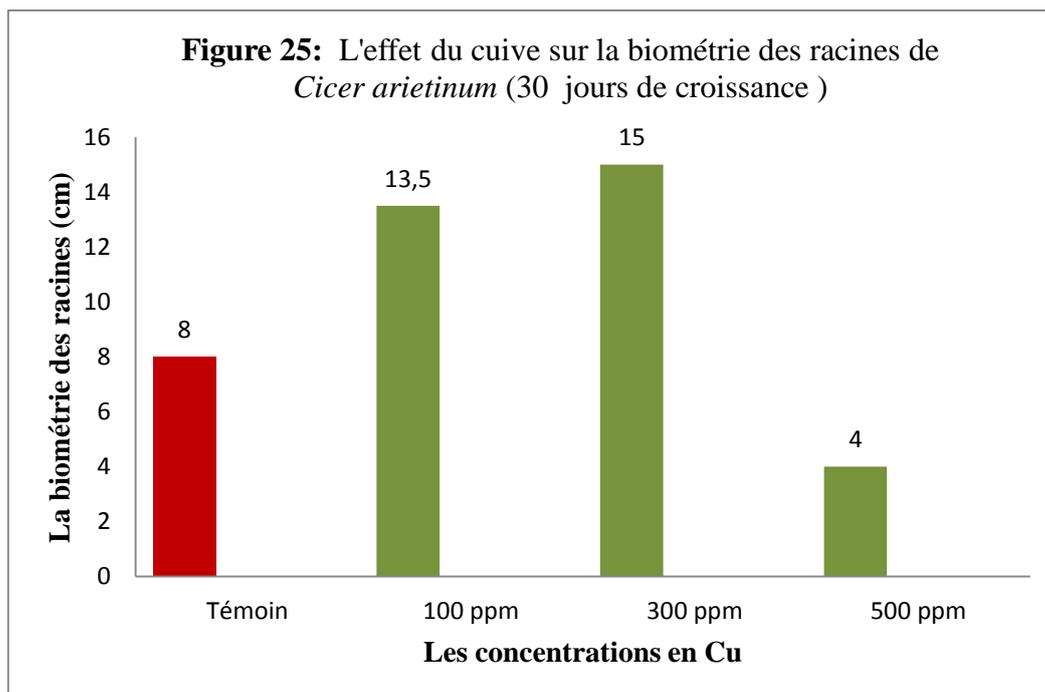




Figure 27 : La biométrie des racines de *Cicer arietinum* L
(Stress Cu, 30 jours de croissance).

Discussion générale

Discussion générale

L'accumulation des métaux lourds dans l'environnement peut se répercuter sur la santé des végétaux, des animaux et des êtres humains (Wang et al, 2003). En effet les sols contaminés constituent un risque potentiel de transfert des métaux aux plantes cultivées et leur bioaccumulation le long des chaînes alimentaires (Nejmeddine et al, 2003).

Les éléments métalliques à forte concentrations dans le sol agissent comme un facteur de stress qui entraîne une modification de la réaction physiologique dont le terme « sensibilité ». Les effets du stress peuvent aller jusqu'à la mort de la plante. Par opposition, le terme résistance fait référence à la réaction de la plante qui lui permet de survivre face au stress métallique et d'assurer sa descendance (Levitt, 1980)

Le cuivre est un des éléments les plus essentiels pour les plantes. Il est considéré comme l'élément le plus mobile des métaux lourds, facilement assimilables par les plantes. (Adriano, 2001). Dans notre étude sur le pois chiche la présence des concentrations croissantes en cuivre (100, 300 et 500ppm) dans la solution d'imbibition n'a pas affecté la germination des graines. Par contre le cuivre a favorisé la germination des graines de *Cicer arietinum* dont le pouvoir germinatif est plus élevé que celui du témoin. La résistance des graines au stress du cuivre vient de sa structure tégumentaire qui forme une barrière contre la phytodisponibilité des éléments métalliques. En effet Chez la majorité des espèces végétales, le tégument assure une très haute protection contre les stress abiotiques et les fortes variations interspécifiques des morphologies de ces téguments peuvent affecter leur perméabilité aux métaux (Moise et al, 2005). Ces résultats montrent que, même à des concentrations élevées pour le métal, les taux d'imbibition demeurent importants et favorables à une réhydratation optimale des téguments. Almansouri et al, (2001) expliquent que l'imbibition ne se réalise que si les forces de l'eau au niveau du milieu de germination sont plus faibles que celles exercées par les tissus de la graine ; en d'autres termes, le potentiel hydrique de la graine doit être inférieur à celui du milieu de germination. L'augmentation des taux d'imbibition par le Cu pourrait être expliquée par leur adsorption sur les cellules du tégument. Ces résultats, ceux trouvés par Di Salvatore et al. (2008) ont montré que le tégument constitue une barrière entre l'embryon et son environnement immédiat pour l'adsorption des métaux.

Concernant la croissance de *Cicer arietinum*, le stress métallique par le cuivre exerce une sensibilité sur la croissance à partir de la troisième semaine de croissance. Cette sensibilité est marquée par une légère diminution de la biométrie des tiges. Pour les racines, les concentrations élevées en Cu affectent leur croissance et les concentrations inférieures (100ppm et 300ppm)

favorisent la croissance de racine dont la biométrie dépasse celle du témoin. Ce comportement vis-à-vis de la croissance est en relation avec les doses admissibles à la plante. En effet le cuivre, est parmi les oligoéléments indispensables à des concentrations faibles pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques (**Loué ; 1993**). Il peut devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil (**Kabata et Pendais, 2001**). **Lexmond et Vorm (1981)** ont montré que l'application des niveaux élevés du cuivre inhibe la croissance des racines avant d'affecter la production de la biomasse aérienne. En termes de croissance foliaire le nombre des feuilles n'est pas affecté par le stress métallique. C'est une constatation en relation avec le niveau de translocation du cuivre vers les parties aériennes. **Cuyper et al,(2000)** ont avancé que La diminution de la translocation du Cu des racines vers les parties aériennes et le stockage des feuilles proches de l'abscission, permettent de protéger et de maintenir des métabolismes essentiels comme la photosynthèse qui n'ont lieu que dans les feuilles .

La présence de l'élément métallique plomb combiné au cuivre a causé une nette diminution de l'activité germinative et le ralentissement du développement de la croissance végétative cela est en relation peut être soit à la concentration du plomb (150ppm) ou la mobilité des oligoéléments nécessaires à la croissance est modifiée ou un déséquilibre du flux des éléments métalliques échangeables qui est installé. Effectivement, l'effet inhibiteur du nitrate de plomb sur la germination à été souligné par plusieurs auteurs chez des espèces de la famille des fabaceae (**Rouibi, 1992 ; Xiong, 1997**).Ce métal déshydrate les tissus (**Rouibi, 1992**), et présente une affinité vis-à-vis les protéines cellulaires, notamment les enzymes qui contrôlent le processus de la germination (**Shalini, 2003**).

L'effet combiné du cuivre et du plomb a ralenti la croissance des racines et des tiges en effet les valeurs moyennes de la biométrie des racines et des tiges sont inférieurs aux celles enregistrées chez le témoin. Cela confirme la sensibilité du système racinaire de *Cicer arietinum* à la présence du plomb dans le sol. Le plomb se retrouve parmi les éléments métalliques les plus toxiques et qui n'est pas indispensable à la plante (**Kabata-Pendias and Pendias,2001**) Il a été démontré que les métaux lourds affectent de nombreux processus morphologiques, physiologiques et biochimiques chez les plantes (**Sobkowiak and Deckert, 2003**). La réduction de croissance est une des réponses les plus fréquentes et la première observable lorsque des plantes sont soumises à un stress métallique (**Appenroth, 2010**). La plante tolère les fortes teneurs en métaux grâce aux stratégies d'adaptation tels que la détoxification, l'immobilisation et l'absorption d'où l'accumulation de ces métaux

Conclusion générale

Conclusion générale

Les métaux lourds accumulés dans le sol peuvent être prélevé par les plantes, et par conséquent contaminer l'homme via la chaîne alimentaire, ce qui constitue un problème sanitaire majeur. Des travaux de recherche sont donc nécessaires pour répondre aux atteintes dans les domaines de la sécurité alimentaire (plantes potagères cultivées dans des jardins proches des sites pollués). En effet, il faut pouvoir s'assurer de l'innocuité des végétaux destinés à être consommés par les êtres humains. C'est dans ce contexte que notre étude s'est orientée vers l'étude du comportement du pois chiche vis-à-vis des concentrations en cuivre et le plomb combiné au cuivre dans le sol.

❖ L'objectif de cette étude est d'évaluer la sensibilité et la tolérance du cuivre et le plomb combiné au cuivre des graines de pois chiche au moyen de test de germination in vitro sur des boîtes de pétri à base de papier filtre et de croissance par des cultures en pot des semences transplantées après une étape germinative préalable sur sol agronomique.

❖ En termes de germination des graines de *Cicer arietinum* L les résultats ont révélé une résistance de germination aux stress métallique du cuivre pour l'ensemble des concentrations utilisées avec un taux maximal de germination de 92%. La cinétique de germination est accélérée à partir du quatrième jour dépassant ainsi celle enregistrée chez le témoin. Le taux relatif de germination est supérieur à 1 majoritairement. Cela confirme que l'effet du cuivre à différentes concentrations ne réduit pas la vitesse relative de germination des graines de *cicer arietinum*. Concernant l'effet du plomb combiné au cuivre, a réduit le taux maximal de germination qui est de 85% contre 88% chez le témoin. Ce qui révèle une sensibilité de la germination vis-à-vis de la combinaison métallique

❖ Les examens morphologiques quantitatifs par les techniques de la biométrie des organes végétatifs (Tiges, racines et nombre des feuilles) sont des facteurs de base pour identifier la tolérance et la sensibilité de la plante vis-à-vis d'un stress de pollution. Les résultats de la moyenne biométrique des tiges montrent que le stress métallique exerce une sensibilité sur la croissance des tiges de *Cicer arietinum*. L. Cette sensibilité est plus marquée à partir du vingtième jour. Cela montre que le stress métallique (Cu) exerce une sensibilité sur la croissance des tiges de *Cicer arietinum*. L. Les valeurs moyennes maximales de la biométrie sont de l'ordre de 17,33 ; 21,33 et 20 pour 100, 300, et 500 ppm respectivement contre 28cm chez le témoin

L'effet combiné (Cu+ Pb) a légèrement diminué la sensibilité de la plante vis-à-vis du cuivre .car à 30 jours de croissance la biométrie moyenne de la tige est de 24 cm contre 21cm (Cu 300 ppm). Malgré cette diminution de sensibilité, les tiges de la plante sont affectées puisque l'ensemble des valeurs de la biométrie restent toujours inférieures par rapport au témoin.

❖ Le stress du cuivre n'a pas affecté la croissance foliaire. Le nombre moyen des feuilles dépasse celui enregistré chez le témoin pour l'ensemble des concentrations utilisées. Cette résistance est atténuée vis-à-vis du test combiné par rapport au test de Cu.

❖ Les résultats de la biométrie des racines révèlent que la croissance est plus importante pour les concentrations en Cu de 100 ppm (13,5) suivie de 300 ppm (15cm), dépassant ainsi la biométrie enregistrée au niveau des témoins (8 cm). Cependant cette croissance est plus sensible aux concentrations de cuivre élevée (500 ppm). L'effet combiné du cuivre et du plomb a ralenti la croissance des racines, car les valeurs moyennes de la biométrie des racines sont inférieures aux celles enregistrées chez le témoin, (6,5 cm contre 8cm). Cela confirme la sensibilité du système racinaire de *Cicer arietinum* à la présence du plomb dans le sol.

Cette étude mérite d'être approfondie, il est nécessaire :

- d'analyser quantitativement le plomb et le cuivre au niveau des parties végétatives pour voir s'il y a une translocation vers les parties consommables

- Etaler les tests vers plusieurs concentrations notamment celles de la combinaison métallique

- Identifier le pois chiche dans la classe des accumulateurs ou hyper-accumulateurs ou sensible

- Evaluer l'indice de risque sur la santé humaine en consommant cette espèce à long terme en étant une plante accumulatrice de polluant.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

AAC (Agriculture et Agroalimentaire Canada), 2012. Pois chiche : Situation et perspectives. Le Bulletin bimensuel ; Volume 19; Numéro 13; 4 pages.

Adriano D C. (2001). Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of metals. Springer-verlag, New York, USA. 867p

ADTSDR. (2007). Toxicological profile for lead, US. Department of health and human services. Public health service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 582p

AFNOR NF P94-048 -1996 -Soil : Investigation and testing- Determination of the carbonate content- Calcimeter method. International Classification for Standards (ICS).

AFNOR X 31- 107. 2003- Qualité du sol- Détermination de la distribution granulométrique des particules du sol- Méthode à la pipette

Alloway B J. (1995). Heavy Metals in Soils. Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, London, p 368

Almansouri M. (2001). Effect of Salt and Osmotic Stresses on Germination in Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.). Plant and Soil 231(2):243- 254

Anju M, Banerjee D K . (2012). Multi variate statistical analysis of heavy metals in soils of a Pb-Zn mining area, India. *Environmental Monitoring and Assessment* 184: 41914206

Anzala F J. (2006). Contrôle de la vitesse de germination chez le Maïs (*Zea mays*) : Etude de la voie de biosynthèse des acides aminés issus de la spartate et recherche du QTLs. Thèse de doctorat. Université d'Angers. 148p

Appel K et Hirt H (2004) Reactive oxygen species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annu Rev Plant Biol* 55, 373-99.

Appenroth, K J. (2010). Definition of “heavy metals” and the irrole in biological systems, in: *Soil Heavy Metals*. Springer, pp. 19–29

Ashraf, M et Foolad, MR (2007) Roles of Glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ Exp Bot* 59, 206-2016

Baba Ahmed A. (2012). Etude de contamination et d'accumulation de quelques métaux lourds dans des céréales, des légumes, des sols agricoles irrigués par des eaux usées de la ville de Hammam Boughrara, Thèse de magistère, p56.

Baize D. (1997). "Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols(France). " INRA

Baker A J M, Walker P L. (1990). Ecophysiology of metal up take by tolerant plants. In J.Shaw (Ed). Heavy MetalTolerance in plants:Evolutionary aspects. CRC Press, Boca Raton

Bazzaz F A, Carlson R W, Rolfe G L. (1975). "Inhibition of Corn and Sunflowerphotosynthesis by lead. "physiologiplantarum 34 :326-329

Benavides M P (2005) Cadmium toxicity in plants. *Braz J Plant Physiol* 17, 21-34. <https://doi.org/10.1590/s1677-04202005000100003>

Berger J , Abbo S , Turner N C. (2003) . Ecogeography of annual wild Cicer species: The poor state of the world collection. In: Plant Genetic Resources. *Crop Sci.* 43, 1076-1090

Bewley J D. (1997). Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9: 1055–1066.

Bich. C., 2005 - Contribution à l'étude de l'activation thermique du Kaolin : Evolution de la structure cristallographique et activité pouzzolique, Thèse doctorat en Sciences et techniques du déchet. Institut national des sciences appliquées. Lyon,

Bisson M, Bureau J, Houeix N, Jolibois B, Gay G, Lefevre J P, Tack K. (2012). Manganèse et ses dérivés - fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. INERIS

Bouchez C. (1985). Perspectives de développement de la culture du pois – chiche (*Cicer arietinum* L.) dans le bassin méditerranéen. Mémoire de DAA, ENSA Montpellier.

Bourrelier P, Berthelin J. (1998). "Contamination des sols par les éléments traces : les risques et leur gestion." Rapport de l'Académie des sciences Ed. Lavoisier, Paris. 42 pp

Braun Ph, Planquaert Ph. et Wery J. (1988) . Le pois chiche : Utilisation. Ed. ITCF, Montpellier, France ; 11 p.

BRGM. (2004). "Guide méthodologique du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués. Rapport final, BRGM/RP-52881-FR"

Brown ,JE (1998) Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. *Biochem J*, **330**, 1173-1178.

Calvet R. (2003). Le sol : Propriétés et fonctions Tome I. Constitution et structure, Phénomènes aux interfaces. Edition. France Agricole 346P

Camuzard J P. (2001). La différenciation des sols ; facteurs de la pédogenèse.

Chaffai R, Koyama H (2011) Heavy metal tolerance in *Arabidopsis thaliana*, *Adv. Bot. Res.* 60 1-49.

Chaussat R et ledeunff Y. (1975). La germination des semences .Ed. Bordars, Paris, 232 p

Chaussod 2001 : la qualité des sols est-elle menacée ? Assise régionale de l'environnement. *Dijon. 20 novembre 2001 ;13-14.*

Cheng S., 2003 -Effects of heavy metals on plants and resistance mechanisms. *Environmental Science and Pollution Research* 10 (4), 256-264.

Cecchi M. (2008). Devenir du plomb dans le système sol- plante. Cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (Fève et Tomate). Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse. 215 : 12-35

Cuypers A (1999) The chemical behaviour of heavy metals plays a prominent role in the induction of oxidative stress. *Free Radical Res* 31, 539-543.

Dat J (2000) Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol Life Sci*57, 779-95.

Demolon A. (1952). Guide pour l'étude expérimentale du sol - 2e édition Broché. Éditeur Gauthier-Villars, Université du Michigan. Numérisé, 2005. 251P

Deneux-Mustin S, Roussel-Debet S, Mustin C, Henner P, Munoe-Lamy C, Colle C. Berthelin J, Garnier-LapalaceJ, Leyval C. (2003). Mobilité et transfert racinaires des éléments en traces : influence des micro-organismes du sol. TEC & DOC, Paris.

Di Salvatore M, Carafa AM, Carratù G. Di Salvatore M. (2008) Assessment of heavy metals phytotoxicity using seed germination and root elongation tests: a comparison of two growth substrates. *Chemosphere.* Nov;73(9):1461-4

Dokoutchaiev Vassili Vassilievitch . (1879). Short historical description and critical analysis of the more important soil classification. *Trav.Soc.Nat.Saint Petersburg en russ : histoire des pédologues et la science du sol.*

Drazkiewicz M. (1994). "Chlorophyll-occurrence, functions, mechanism of action, effects of internal and external factors. " *Photosynthetica* 30 : 321-331.

Dudal Y. (2004) Accounting for natural organic matter in aqueous chemical equilibrium models: a review of the theories and applications. *Earth Science Reviews* 66: 199-216

Elmsley J. (2001). Nature's Building Blocks.A-Z guide to the elements. Oxford University Press, Oxford, UK

Erroux J. (1975). Agronomie méditerranéenne. Le milieu méditerranéen et ses problèmes. Les cultures Verviers en Algérie, Tome I.

Facchinelli A, Sacchi E, Mallen L (2001) Multivariate statistical and Gis-based approach to identify heavy metal sources in soils, *environ.pollut.* 1143 313-324.

FAOSTAT., 2015. <http://www.faostat3.fao.org/> (consulté le 23/04/2016).

Ferrand E, Dumat C, Leclerc-Cessac E, Benedetti M. (2006). Phytoavailability of zirconium in relation to its initial added form and soil characteristics. *Plant Soil* 287: 313-325

Foreau B, Mauboussin T. (2009) Métal Blanc - Bourg-Fidèle (08) Interprétation de l'état des milieux. ArcaGée

Foy CD, Chaney RL, White MC. (1978). "The Physiology of Metal Toxicity in Plants. " *Annual Review of Plant Physiology* 29 :511-566

Garnaud J, Mouchel G, Chebbo D, Thévenot. (2001). Caractérisation des retombées atmosphériques de métaux traces en milieu urbain. *Techniques Sciences Méthodes*, 5 :30-39, 2001. 30, 106, 107, 114p

Gill S S et Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem* 48 (12), 909-930.

Girard M C, Walter C, Rémy J C, Berthelin J, Morel J L. (2011). Sols et environnement - 2e édition. Dunod. Paris, France

Gomez-Caravaca ,AM (2006) Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharm Biomed Anal* 41, 1220-1234.

Gopal R et Rizvi A H. (2008). "Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients radish. " *Chemosphere* 70 :1539-1544.

Grappin P, Bouinot D, Sotta B, Miginiac E et Jullien M.(2000). Control of seed dormancy in *Nicotiana plumbaginifolia*: post-imbibition abscisic acid synthesis imposes dormancy maintenance. *Planta* 210, 279-85

Herve M. (2006). « L'Afrique agricole » dans le journal *Le Monde* du 9 juin.

Heller R., Esnault R. et Lance C. (2004). *Physiologie végétale II, Développement.* Ed, dunod, paris . 64-240 pp.

- Heller R, Esnault S et Lance C. (1990).** Physiologie Végétale, Masson Paris P 16
- Hopkins, G.W., 2003.** Physiologie végétale. 1ere Ed. Ed. De Boeck, 514 p
- Huynh M. (2009).** Impacts des métaux lourds sur l'interaction plante / ver de terre microflore tellurique; thèse de Doctorat. Université Paris Est 169 p.
- Icrisat. (2008).** Pois chiche. www.mapageweb.umontreal.ca/bruneau/simon/chapitre11legumineuses2.pdf. webmaster-icrisat@cgiar.org Chickpea Consulté le 4/7/2008.
- Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew B, Beeregowda K N (2014)** Toxicity, mecanism and health effects of some heavy metals, Interdiscip.Toxicol. 7
- Jaiswal R and Singh N P. (2001).** Plant Regeneration from NaCl Tolerant Callus/Cell Lines of Chickpea, International Chickpea and Pigeonpea, Newsletter 8; ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics); 73 p.
- Jung M J (2008)** Free radical scavenging and total phenolic contents from methanolic extracts of *Ulmus davidiana*. *Food Chem* 108, 482–487.
- Kabata P A, Pendias H. (2005).** Trace elements in soils and plants. 3rd CRC Press , Boca Raton , London , New - York , Washington D.C
- Kabata-Pendias A. et Pendias H., 2001-** Trace elements in soils and plants. *3rd Edition CRC Press Boca Raton, London, New-York, Washington D.C*
- kamel M. (1990)** . winter chickpea: status and prospects. option méditerranéenne - séries séminaires, 9, 145-150.
- Kasprzak,MM(2015)** Properties and applications of flavonoid metal complexes. *RSC Advances* 5, 45853-45877
- Keating J D H., Cooper P.J.M., 1983.** Physiological and moisture use studies on growth and development of winter sown chickpeas Ascochyta blight and winter sowing of chickpea. *Rev. World crops* n° 9 : 141-157.
- Klute A., 1986** - Methods of Soil analysis. Part I: physical and mineralogical methods. 2nd Edition Madison. American Society of Agronomy, 1100p
- Kopittke P M, Asher C J, Kopittke R A, Menzies N W. (2007).** Toxic effects of Pb²⁺ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environ Poll.* 150: 280-287.
- Ladizinsky G. (1987).** Pulse domestication before cultivation. *Econ. Bot.*, 41: 60-65.
- Legros J. (2007)** : Les Grandes Sols Du Monde. Presses Polytechniques Et Universitaires Romondes, 574p.
- Loué A. (1993).** Oligo-Éléments en Agriculture. SCPA, Nathan, Paris, P 577

- Leport L, Turner N C, Davies S L and Siddique K H M. (2006)** . Variation in pod production and abortion among chickpea cultivars under terminal drought. *Europ. J. Agronomy*, 24: 236-246.
- Levitt J., 1980** - Responses of plants to environmental stresses. Volume II: Water, radiation, salt, and other stresses. Academic Press, New York
- Lexmond T.M., Van Der Vorm P.D.J.. (1981)**.The effect of pH on copper toxicity to hydroponically grown maize. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, v.29, p.217-238.
- Lie T. A. (1971)** . Temperature dependant root nodule formation in pea cv. *Tran. Plant and Soil.*, 34: 751-752
- Liu D, Jiang W, Liu C, Xin C, Hou W. (2000)**. "Uptake and accumulation of lead by roots, hypocotyls and shoots of Indian [*Brassica juncea* (L.)]. " *Bio resource Technology* 71 :273-277
- Loué A., 1993** - Oligo-éléments en agriculture. *Edition Nathan (ed)*, 45-177. Macnair M R (2007) Life history variation in *Thlaspi caerulescens*. *New Phytologist* 173, 6-8.
- M.A.D.R., 2015**. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. *Annuaire Statistiques*, Série B.
- Makowski E, Kita A, Galas W, Karcz W, Kuperberg J M. (2002)**. "Lead distribution in corn seedlings (*Zeamays L.*) and its effect on growth and the concentration of potassium and calcium." *Plant Growth Regulation* 37 :69-76
- Malekia M (2017)** Physiological and antioxidative responses of medicinal plants exposed to heavy metals stress. *Plant Gene* 11, Part B, 247-254
- Mazliak P, 1982** - Croissance et développement. *Physiologie végétale* II.
- McGrath S P et Zhao,FG (2003)** Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Environ Biotech* 14, p 277
- McKenzie R.M., 1980** -The adsorption of Lead and other heavy metals on oxides of Manganese and Iron. *Aust, J. Soil. Res.* 18, 61-73.
- Meyer S, Reeb C et Bosdeveix R. (2004)**. *Botanique, biologie et physiologie végétale* .Ed. Moline, Paris, 461p.
- Miquel G., 2001**- Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport de l'office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, 366 p
- Mishra A, Choudhuri M A. (1998)**. "Amelioration of lead and mercury effects on germination and riceseedling growth by antioxidants. " *Biologia plantarum* 41 :469- 473

Moise, J.A., Han, S., Gudynaite-Savith, Johnson, D.A., Miki, B.L.A., (2005). Seed cots : structure, développement, composition, and biotechnology, *In Vitro Cell. Dev. Biol.Plant*,41 : 620-644.

Moolani M K Y, Chandra S., 1970. Gram cultivation in Haryana. Haryana Agricultural University, Hisar, India, 15pp.

Nejmeddine A., Echab A., Fars S., Hafidi M., 2003- Accumulation des éléments traces métalliques par le ray-grass (*Lolium perenne*) cultivé sur des sols amendés par des boues de stations d'épuration. *Cahiers Agricultura*, 12: 33-38.

Obaton M., 1992. Facteur pédoclimatiques limitant la fixation biologique de l'azote chez les légumineuses. In MULONGOY K., GUEYE M., SPENCER D.S.C., (ed): biological nitrogen fixation and sustainability of tropical agriculture.

O M S. (1978). Plomb, critères d'hygiène de l'environnement. Rapp. P.N.U.E., 172p.

Ozenda P. (1982). Flore du Sahara septentrional et central. CNRS, ED, France, 486 P.

Pacucci G., Troccoli C., Leoni B., 2006. Supplementary Irrigation on Yield of Chickpea Genotypes in a Mediterranean Climate. *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*. Manuscript LW 04 005. Vol. VIII.

Peralta J.R., Gardea T.J.L., Tiemann K.J., Gomez E., Arteaga S., Rascon E., Parsons J.G. 2001 - Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in alfalfa (*Medicago sativa*) L. *Environmental Contamination and Toxicology*; 66: 727– 73

Plancquaert P.H., Wery J. (1991) .Le pois chiche- Culture et utilisation. Brochure Ed. ITCF Paris France, 11p

Poitier G A. (1981). Flore de la Tunisie ; 2 tomes ; 1190 p.

Ponthieu M, Pourret O, Marin B, Schneider A R, Morvan X, Conreux A, Cancès B. (2016). Evaluation of the impact of organicmatter composition on metal speciation in calcareous soil solution: comparison of Model VI and NICA-Donnan. *Journal of Geochemical Exploration* 165: 1-7.

Prasad K (1999) Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea*. *Environ Exp Bot* 42, 1–10.

Pugh R.E., Dick D. G., Fredeen A. L., 2002 - Heavy metal (Pb, Zn, Cd, Fe and Cu) contents of plant foliage near the Anvil Range lead/zinc mine, Faro, Yukon Territory, *J. Ecotoxi. Environ. Safety* 52, 273-279.

Raskin I, Kumar P B A N, Dushenkov S, Salt D E. (1994). Bioconcentration of heavymetals by plants. *Curr. Opin. Biotechnol* , p90

Ravichandran R (2014) Antioxidant study of quercetin and their metal complex and determination of stability constant by spectrophotometry method. *Food Chem* **146**, 472-478.

Rausser W E (1995) Phytochelatins and related peptides, structure, biosynthesis and function. *Plant Physiol* 109, 1141-1149

Redden R J and Berger J D. (2007). History and origin of chickpea. Chickpea breeding and management. *Pathol.*, 42: 172–180.

Rouibi A. (1992). Etude des effets du nitrate de plomb sur la germination et la productivité primaire nette chez *Phaseolus vulgaris*. Thème de Magister en Ecotoxicologie Université d'Annaba Algérie.

Sassene A. (1989). Etude de la fertilisation et de l'inoculation du pois chiche. Mémoire d'Ingénieur en Agronomie, INA, Algérie ; 77p.

Saxena N P. (1984) . Chickpea. In: Goldsworthy P.R., Fisher N.M. *The Physiology of Tropical Field Crops*: 419-452.

Selvaraj,S (2014) Flavonoid–metal ion complexes: a novel class of therapeutic agents. *Med Res Rev* **34**, 677-702

Seregine I V, Ivaniov V B. (2001). Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 48: 523-544 et 606-63

Seregine I V, Schpigon L K , Ivanov V B. (2004). Ristrubtion and toxic effects of cadmium and lead on maizeroots ; *Russain of plants phsiologie* 51 (4): 525 – 533.

Shalini R S. (2003). Lead toxicity induces lipidper oxidation and the activities of antioxidant enzymes in growingrice plants. *Plant Science*, 645-655

Sharma P, Dubey R S. (2005). Lead toxicity in plants. *Braz J Plant Physio.* 17 (1): 3552

Singh K B and Reddy M V. (1991). Advances in disease-resistance breeding in chickpea. *Advances in agronomy*, 45: 191-222.

Slama F. (1998). Cultures industrielles et légumineuses à graines. Ed. Centre de diffusion Universitaire Tunisie, en Arabe ; 300 p.

Sobkowiak R, Deckert J. (2003). Cadmium-induced changes in growth and cell cycle gene expression in suspension-culture cells of soybean. *Plant Physiol. Biochem.* 41, 767–772.

Summerfield R J, Minchin F R, Roberts E H and Hadley P. (1979) . The effects of photoperiod and air temperature on growth and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Proceedings international workshop on chickpea improvement*. Ed. ICRISAT: 121-144

Symonowicz, M et Kolanek, M (2012) Flavonoids and their properties to form chelate complexes, *Food Sci Biotechnol* **76**, 35-41.

Tayeb-Ameziane E. 1995- Agronomie moderne : bases physiologiques et agronomiques de la production végétale ; ouvrage collectif. ISBN/ ISSN/ EAN : 978-2-218-06815-7. Editeur : Paris : Hatier

Tomulescu I, Radoviciu E, Merca V, Tuduce A. (2004). "Effect of Copper, Zinc and Lead and Their Combinations on the Germination Capacity of Two Cereals" journal of agricultural sciences 15 : 3

Upadhyaya H D , B P J , Singh S. (2001) . Development of a Chickpea Core Subset Using Geographic Distribution and Quantitative Traits. *Plant Genetic Resources; Crop Sci*

Van Der Maesen L J G. (1987) . Origin, history and taxonomy of chickpea. In: SAXENA M.C., SINGH K.B., ed. *The Chickpea*. P.p. 11-37.

Vanier P., 2005. Le pois chiche au fil du temps : Usages culinaires, Conservation, Jardinage biologique et écologique et environnement. Institut des nutraceutiques et des aliments fonctionnels (INAF), Université Laval ; 11p.

Verghis T I, McKenzie B A, and Hill G.D., 1999. Phenological development of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Canterbury, New Zealand. *New Zealand Journal of crop and Horticultural Science*, 27: 249-256

Vodnik D, Jentschke G, Fritz E, Gogala N, Godbold D L. (1999). "Root-applied cytokinin reduces lead uptake and affects its distribution in Norway spruce seedling. " *Physiologia Plantarum* 106:75-81

Wang W.S., Shan X.Q., Wen B. et Zhang S.Z., 2003 -Relationship between the extractable metals from soils and metals taken up by maize roots and shoots. *Chemosphere*, 53: 523-530

Wery J, Silim S N, Knights E J, Malhotra R S, Cousin R. (1994) . Screening techniques and sources and tolerance to extremes of moisture and air temperature in cool season food legumes, *Euphytica* 73, 73–83.

Wierzbicka M, Obidzinska J. (1998). "The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. " *Plant Science* 137 :155-171

Wood J A , Grusak M A.(2007). Nutritional value of chickpea. In YADAV S.S., REDDEN R.J., CHEN W., SHARMA B., ed., 2007. *Chickpea breeding and management* Cambridge, CAB international, p.p. 101-142.

Wu F (2007) Differences in yield components and kernel Cd accumulation in response to Cd toxicity in four barley genotypes. *Chemosphere* 70 (1), 83-92

Xiong Z, Zhao F, Li M. (2006). "Lead toxicity in *Brassica pekinensis* Rupr: Effect on nitrate assimilation and growth. " *Environment Toxicology* 21:147-153.

Xiong Z T (1997). Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleraceus* L. *Environmental Pollution* 97 : 275–279

Zouari M (2016 a) Exogenous proline enhances growth, mineral uptake, antioxidant defense and reduces cadmium-induced oxidative damage in young date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Ecol Eng* 86, 202-209

Zouari , M (2016 b) Impact of proline application on cadmium accumulation, mineral nutrition and enzymatic antioxidant defense system of *Olea europaea* L. cv Chemlali exposed to cadmium stress. *Ecotox Environ Safe* 128, 195-205