## République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département des Sciences Biologiques et de l'Environnement Spécialité : Biodiversité et Sécurité Alimentaire



T /0	
VÁť	•
IVCI	

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

## **MASTER**

## **Thème**

## Etude de l'effet du nickel (Ni) et du cadmium (Cd) sur la germination des graines de la lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.)

Présenté par :

## Saou Katia & Ichalalen Mahdjouba

Soutenu le : 14 Juillet 2022

Devant le jury composé de :

Mr Ramdani N. MCB Président
Mr Benadjaoud A. MCB Encadreur
Mme Bouadam-Farhi B. MCB Examinatrice

Année universitaire: 2021 / 2022

## REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous remercions Dieu tout-puissant de nous avoir donné la force et la patience d'accomplir cette humble œuvre. En effet, nous tenons à remercier les responsables du département et du service des stages. Nous remercions tous les techniciens du laboratoire pour leur confiance et leur accueil au sein du laboratoire.

On exprime nos profonds remerciements à notre cher promoteur Monsieur BENADJOUD Ali pour sa patience, surtout sa confiance, ses remarques et suggestion, et sa chaleur et sa gentillesse. Nous sommes très reconnaissants à Monsieur DADACH Mohammed pour ses conseils, son aide et son soutien.

On tient également à remercier Monsieur SAHNOUNE Mohamed pour, son accueil chaleureux et ses encouragements.

Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements aux membres de jury. Merci à Monsieur le Présidant RAMDANI Nacer et l'Examinatrice Madame BOUADAM Baya, trouvent ici l'expression de nos Plus hautes considérations et de notre sincère reconnaissance pour avoir accepté de juger ce travail.

A tous nos enseignants qui ont éclairé la voie du savoir.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour réalisation de ce travail.

Merci pour tous.



λ Longueur d'onde

**Cd** Cadmium

Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> Nitrate de cadmium

**H** Heure

**KCl** Chlorure de potassium

L. Lavandula

L. LinnéMn Minute

NaCl Chlorure de sodium

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Sulfate de sodium

Ni Nickel

NiSO4.6H2O Sulfate de nickel hexahydraté

PEG<sub>6000</sub> Polyéthylène glycol de masse molaire de 6000 g/mol

**PF** Poids frais

**Ppm** Parties par Million

PS Poids secTab. Tableau

UICPA Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée

Vs Versus

I. Introduction	01
II. Analyse Bibliographique	03
II.1. Généralités sur la lavande papillon	03
II.1.1. Origine et répartition géographique	03
II.1.2. Taxonomie de Lavandula stoechas L.	04
II.1.3. Caractérisation botanique de Lavandula stoechas L.	04
II.1.4. Intérêt commercial, nutritionnel et pharmacologique	06
II.2. Généralités sur la germination	07
II.2.1. Définition	07
II.2.2. Conditions requises pour la germination	07
<b>II.2.2.1.</b> L'eau	07
<b>II.2.2.2.</b> L'oxygène	07
II.2.2.3. Température	07
<b>II.2.2.4.</b> Lumière	07
II.2.3. Phases de la germination	08
II.2.3.1. Phase d'imbibition	08
II.2.3.2. Phase de germination au sens strict	08
II.2.3.3. Phase de croissance post-germinative	08
II.2.4. Entraves à la germination	09
II.2.4.1. Types de dormance	10
II.2.4.2. Levée des dormances	10
II.3. Métaux lourds	11
II.3.1. Définition	11
II.3.1.1. Métaux essentiels ou oligo-éléments	11
II.3.1.2. Métaux toxiques	11
II.3.2. Pollution par les métaux lourds	12
II.3.2.1. Toxicité induite par le cadmium	12
II.3.2.2. Toxicité induite par le nickel	13
II.3.3. Phytoremédiation	13
II.3.3.1. Stratégie de la phytovolatilisation	13
II.3.3.2. Stratégie de la phytoextraction	14
II.3.3.3. Stratégie de la phytodégradation	14
II.3.3.4. Stratégie de la phytostabilisation et/ou de la rhizodégradation	14

$\sim$	11111	naire

	Sommanc
II.4. Proline	15
II.4.1. Définition	15
II.4.2. Biosynthèse de la proline	15
II.4.2.1. Voie de l'acide glutamique	15
II.4.2.2. Voie de l'ornithine	16
II.4.3. Catabolisme de la proline	16
II.4.4. Rôles de la proline	17
III. Matériel & Méthodes	18
III.1. Matériel	18
III.1.1. Matériel végétal	18
III.1.1. Origine des graines	18
III.1.1.2. Traitement des graines	18
III.1.1.3. Répartition et modalités de germination des graines	18
III.1.1.4. Plantules issues des germinations	19
III.1.2. Préparation des solutions de traitement des graines	20
III.1.2.1. Solution de NiSO <sub>4</sub>	20
III.1.2.2. Solution de $Cd(NO_3)_2$	20
III.2. Méthodes	21
III.2.1. Paramètres de la germination calculés	21
III.2.1.1. Pourcentages cumulés de germination	21
III.2.1.2. Pourcentages finaux de germination	21
III.2.1.3. Temps moyens de germination	21
III.2.2. Statut de l'eau	21
III.2.2.1. Mesure du poids frais	21
III.2.2.2. Mesure du poids sec	22
III.2.2.3. Calcul de la teneur en eau	22
III.2.3. Mesures biométriques	22
III.2.3.1. Mesure de la racine	22
III.2.3.2. Mesure de la partie aérienne	22
III.2.4. Extraction et dosage de la proline	22
III.2.4.1. Extraction	22
III.2.4.2. Dosage	23
III.2.4.3. Courbe étalon	23
III.2.5. Etude statistique	23

$\alpha$					•	
S	$\sim$	m	n	าก	1	ra
١,	()	ш	ш	10	ш	ıc

	ommane
IV. Résultats & Discussion	25
IV.1. Résultats	25
IV.1.1. Résultats relatifs à la germination	25
IV.1.1. Pourcentages cumulés de germination des graines traitées au NiSO <sub>4</sub>	25
IV.1.1.2. Pourcentages cumulés de germination des graines traitées au Cd(NC	<b>26</b>
IV.1.1.3. Pourcentages finaux de germination des graines traitées au NiSO <sub>4</sub>	27
IV.1.1.4. Pourcentages finaux de germination des graines traitées au Cd(NO <sub>3</sub> )	<b>28</b>
IV.1.1.5. Temps moyens de germination des graines traitées au NiSO <sub>4</sub>	28
IV.1.1.6. Temps moyens de germination des graines traitées au Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	29
IV.1.1.7. Comparatif entre lots de graines traitées au NiSO <sub>4</sub> / Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	30
IV.1.2. Résultats relatifs au statut de l'eau des plantules	32
IV.1.2.1. Poids frais des lots de plantules résultants des divers traitements	32
IV.1.2.2. Poids secs des lots de plantules résultants des divers traitements	33
IV.1.2.3. Teneur en eau des lots de plantules résultants des divers traitements	35
IV.1.2.4. Comparatif entre les lots de plantules résultants des divers traitemen	ts <b>36</b>
IV.1.3. Résultats relatifs aux mesures biométriques	38
IV.1.3.1. Partie racinaire des lots de plantules résultants des divers traitements	38
IV.1.3.2. Partie aérienne des lots de plantules résultants des divers traitements	39
IV.1.3.3. Comparatif entre les lots de plantules résultants des divers traitemen	ts <b>40</b>
IV.1.4. Résultats relatifs aux quantités de proline	41
IV.1.4.1. Proline I des lots de plantules résultants des divers traitements	41
IV.1.4.2. Proline II des lots de plantules résultants des divers traitements	43
IV.1.4.3. Comparatif entre les lots de plantules résultants des divers traitemen	ts 44
IV.2. Discussion	45
IV.2.1. Germination des graines	45
IV.2.2. Statut de l'eau des plantules	48
IV.2.3. Mesures biométriques	49
IV.2.4. Quantités en proline	50
V. Conclusion	52
VI. Références bibliographiques	54

N°	Titre	Page
1	Classification de <i>Lavandula stoechas</i> L. (d'après Upson and Andrews, 2004).	04
2	Tableau périodique des éléments de Mendeleïev où sont représentés les éléments métaux lourds de densité supérieure à 5 g/cm³ (d'après Roggo, 2003).	11
3	Evolution des pourcentages finaux de germination des graines de <i>Lavandula stoechas</i> L. sous les effets des différentes concentrations en NiSO <sub>4</sub> ou en Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .	31
4	Evolution des temps moyens de germination des graines de <i>Lavandula</i> stoechas L. sous les effets des différentes concentrations en NiSO <sub>4</sub> ou en Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .	32
5	Poids frais moyens des plantules de Lavandula stoechas L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en NiSO $_4$ / $Cd(NO_3)_2$ .	36
6	Poids secs moyens des plantules de Lavandula stoechas L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en NiSO $_4$ / Cd(NO $_3$ ) $_2$ .	37
7	Teneur en eau moyennes des plantules de <i>Lavandula stoechas</i> L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en NiSO <sub>4</sub> / Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .	38
8	Longueur de la partie racinaire des plantules de Lavandula stoechas L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en $NiSO_4/Cd(NO_3)_2$ .	41
9	Longueur de la partie aérienne des plantules de $\it Lavandula stoechas L.$ issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en NiSO <sub>4</sub> / Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .	41
10	Quantité en proline I (exprimée en mg/g de matière végétale fraîche) des plantules de <i>Lavandula stoechas</i> L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en NiSO <sub>4</sub> / Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .	44
11	Quantité en proline (exprimée en mg/100 mg de matière végétale sèche) des plantules de <i>Lavandula stoechas</i> L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en NiSO <sub>4</sub> / Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .	45

N°	Titre	Page
01	Distribution géographique de <i>Lavandula stoechas</i> L. dans le monde (d'après <b>Upson and Andrews, 2004</b> ).	03
02	Illustration de la partie fleurie de <i>Lavandula stoechas</i> L. (d'après <b>Benabdelkader, 2012</b> ).	05
03	Courbe théorique des différentes phases de la germination (d'après Côme, 1975).	08
04	Induction et levée de la dormance contrôlée par les interactions entre facteurs de l'environnement et la balance hormonale ABA / GA (d'après <b>Peycru et al. 2010</b> ).	09
05	Principaux métaux lourds, source et effets sur les organismes et l'environnement (http://cmap.ulaval.ca/rid).	12
06	Stratégies d'action des plantes sur les métaux lourds au niveau des racines et/ou des feuilles (d'après <b>Sterckeman et al. 2012</b> ).	14
07	Les 2 formes énantiomères de la proline L et D correspondant à l'acide pyrrolidine-2-carboxylique ( <b>Patriarca et al. 2021</b> ).	15
08	Biosynthèse de la proline via la voie principale de l'acide glutamique ou de la voie accessoire de l'ornithine ( <b>Trovato et al. 2008</b> ).	16
09	Catabolisme de la proline mitochondriale (Trovato et al. 2008).	16
10	Les multiples rôles de la proline nouvellement synthétisée en réponse à différents types de stress ( <b>Trovato et al. 2008</b> ).	17
11	Opération de désinfection de surface des graines de <i>Lavandula stoechas</i> L. par une solution d'eau de javel à 5%.	18
12	Préparation des boîtes de Pétri et mise en place des graines de <i>Lavandula stoechas</i> L. pour germination.	19
13	Présentation des cristaux de sulfate de nickel hexahydraté (hhtp://fr-wikipedia.org/wiki/Sulfate_de_nickel(II)) et ses quelques caractéristiques physchimiques.	20 sico-
14	Présentation des cristaux de nitrate de cadmium tétrahydraté (hhtp://fr-wikipedia.org/wiki/Nitrate_de_cadmium) et ses quelques caractéristiques physichimiques.	<b>20</b>

- Courbe étalon de la proline réalisée à l'aide d'une solution mère de prolinede 1 mM (densité optique lue à λ = 515 nm).
- 16 Evolution des pourcentages cumulés moyens de germination des graines de Lavandula stoechas L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> [100 ; 200 ; 300 et 400 ppm] en fonction du temps.
- 17 Evolution des pourcentages cumulés moyens de germination des graines de *Lavandula stoechas* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> [100; 200; 300 et 400 ppm] en fonction du temps.
- Effets des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> [100 ; 200 ; 300 et 400 ppm]
   sur les pourcentages finaux de germination des graines de *Lavandula* stoechas L. comparativement aux graines témoins [0 ppm].
- Effets des différentes concentrations en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> [100 ; 200 ; 300 et 400
   ppm] sur les pourcentages finaux de germination des graines de *Lavandula* stoechas L. comparativement aux graines témoins [0 ppm].
- 20 Effets des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> [100 ; 200 ; 300 et 400 ppm] sur les temps moyens de germination des graines de *Lavandula stoechas* L. comparativement au temps moyen de germination mis par les graines témoins [0 ppm].
- 21 Effets des différentes concentrations en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> [100; 200; 300 et 400 ppm] sur les temps moyens de germination des graines de *Lavandula stoechas* L. comparativement au temps moyen de germination mis par les graines témoins [0 ppm].
- Evolution des poids frais moyens par jeune plantule de *Lavandula stoechas*L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>
  appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0.05$ .
- 23 Evolution des poids secs moyens par jeune plantule de *Lavandula stoechas* L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0.05$ .
- 24 Evolution des teneurs en eau moyennes par jeune plantule de Lavandula 35 stoechas L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil α = 0,05.

- 25 Evolution des longueurs moyennes des racines par jeune plantule de 39 Lavandula stoechas L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en  $Cd(NO_3)_2$  appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0.05$ .
- Evolution des longueurs moyennes des parties aériennes par jeune plantule de Lavandula stoechas L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil α = 0,05.
- 27 Evolution des quantités en proline (exprimées en mg/g de matière végétale fraîche) par jeune plantule de *Lavandula stoechas* L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil α = 0,05.
- 28 Evolution des quantités en proline (exprimées en mg/100 mg de matière végétale sèche) par jeune plantule de *Lavandula stoechas* L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil α = 0,05.



## I. Introduction

Les niveaux mondiaux des pollutions de différentes natures ont considérablement augmenté ces dernières années. De multiples emplacements en différents endroits à l'échelle mondiale sont devenus inhabitables en raison des niveaux de pollution très importants qui touchent non seulement le sol, mais aussi l'air et l'eau. En effet, nombreux sont les écosystèmes touchés par de tels fléaux, tout près des sites industriels, sources de rejets de métaux lourds, de composés organiques, ainsi que parfois de composés radioactifs. Cescontaminations, qu'elles soient donc localisées ou diffuses, sont une préoccupation majeure pour la gestion de l'environnement et la santé publique (**Dabouineau et al. 2005**).

La compréhension des effets de ces pollutions a conduit au développement de nouvelles façons d'appréhender la problématique de contamination et de chercher à restaurer les environnements pollués. Ces techniques de décontamination, de plus en plus appliquées et sophistiquées, visent à éliminer partiellement voire complètement les contaminants. Dans cet ordre d'idées, les techniques de l'excavation et du retraitement sont préconisées pour la dépollution des sols. C'est le concept de phytoremediation ou bien la décontamination des sols par des plantes (**Dabouineau et al. 2005**).

L'Algérie au vu de sa situation géographique offre une végétation riche, diversifiée et surtout aux multiples vertus. Nombreuses sont les plantes qui poussent spontanément, dont les plantes aromatiques dont l'intérêt n'a cessé de croître ces dernières années. L'intérêt porté pour de telles plantes se situe particulièrement du côté médicinal, étant sources naturelles de molécules chimiques, comme les métabolites secondaires, qui interviennent dans de nombreux domaines. A titre indicatif, ils ont déjà trouvé leur place dans l'aromathérapie, les pharmacies, les parfums, les cosmétiques et la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leur large spectre d'activités biologiques reconnues (**Boukhatem et al. 2020**).

Justement, il est tentant de les tester dans cette optique de phytoremediation de sols contaminés par les métaux lourds et d'en voir les capacités avérées ou pas pour une utilisation potentielle de cette espèce. *Lavandula stoechas* L., plante aromatique de premier ordre, très abondante et poussant spontanément dans nos environnements les plus proches, a été choisi pour répondre partiellement à cet objectif. Pour ce faire, notre travail préliminaire d'approche des capacités de phytoremediation de cette espèce a été organisé de la façon suivante :

- Aspect germinatif sous traitement aux métaux lourds : les graines de *Lavandula stoechas* L. récupérées à maturité sont d'abord mises à germer en présence de deux métaux lourds, le Ni et le Cd. Ces deux métaux ont été apportés respectivement sous forme de NiSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O et de Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.8/3H<sub>2</sub>O ; et ont été utilisés à différentes concentrations croissantes, de l'ordre de [100, 200, 300 et 400 ppm]. Durant cette partie, l'aspect germinatif qui a été privilégié est apprécié en déterminant : (1) les pourcentages cumulés de germination des graines au cours du temps ; (2) les pourcentages finaux de germination obtenus au terme des 20 jours de suivi de la germination ; et (3) le temps moyen de germination pour rendre au mieux de la vitesse de germination des graines sous de telles contraintes.
- Analyses effectuées sur les plantules : les plantules qui en sont issues après germination des graines traitées au préalable soit par le Ni ou par le Cd ont été analysées. Ces analyses ontportés sur : (1) le statut de l'eau en déterminant le poids frais, le poids sec et la teneur en eau des plantules ; (2) les mesures biométriques relatives aux longueurs des parties aérienne et racinaire pour apprécier l'aspect croissance des plantules ; et (3) la quantification de laproline, un osmolyte compatible très caractéristique des réponses des végétaux face auxdivers stress.

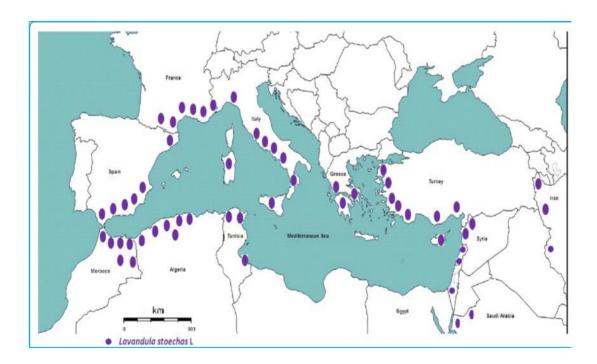
## ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

## II.1. Généralités sur la lavande papillon

## II.1.1. Origine et répartition géographique

Le nom lavande vient du latin *lavare*, car les Romains parfumaient leurs bains avec cette plante. Cette opération avait un double effet : elle avait le pouvoir de parfumer le corps, en même temps et surtout, elle le protégeait contre les maladies, grâce à son grand pouvoir antiseptique et antibiotique (**Wilson, 2008**).

Lavandula stoechas L. (syn. stoechas officinarium Moench) est communément appelée 'lavande française', 'lavande italienne', 'lavande espagnole', 'lavande des stoechades', 'lavande maritime', 'lavande papillon' ou 'lavande à toupet'. Elle a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et elle est aussi la lavande dont le territoire géographique est le plus vaste. Elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen (Europe méridionale, l'Afrique du Nord et le Moyen Orient) avec une petite disjonction sur la frontière Lybie-Egypte. Actuellement, elle a été introduite et est cultivée en Bretagne, Nouvelle Zélande et en Australie (Benabdelkader, 2012) (Fig. 1).



**Figure 1**: Distribution géographique de *Lavandula stoechas* L. dans le monde (d'après **Upson and Andrews, 2004**).

En Algérie, les populations naturelles de *Lavandula stoechas* L sont situées au nord du pays, le long de la côte méditerranéenne dans les wilayas de Skikda, Jijel, Boumerdes, Bouira, Blida, Médéa, Ain Defla, Chlef et Tizi Ouzou (**Benabdelkader**, **2012**). Elle est parmiles très nombreuses espèces végétales qui forment la flore spontanée Algérienne (**Hussein**, **2000**).

## II.1.2. Taxonomie de Lavandula stoechas L.

La lavande papillon appartient à la famille des *Lamiaceae*. Ces arbustes sont célèbres pour leurs fleurs très parfumées et pour leurs feuillages aromatiques et persistants (**Saadatian et al. 2013**). Selon **Upson** et **Andrews** (**2004**), la taxonomie de la lavande papillon est la suivante :

Tableau 1 : Classification de Lavandula stoechas L. (d'après Upson and Andrews, 2004).

Règne	Plantae					
Sous-Règne	Plantes vasculaires					
Embranchement	Spermaphytes					
Sous-Embranchement	Angiospermes					
Classe	Dicotylédones					
Sous-Classe	Dialypétales					
Ordre	Lamiales					
Famille	Lamiaceae					
Sous-Famille	Nepetoideae					
Genre	Lavandula					
Espèce	Lavandula stoechas L.					

## II.1.3. Caractérisation botanique de Lavandula stoechas L.

La lavande papillon se présente sous forme d'un arbrisseau pouvant atteindre 1 m de haut, tomenteux, blanchâtre, tétragone, très ramifié et très aromatique avec une lourde odeur semblable à celle du pin (**Benabdelkader**, **2012**; **Jullien**, **2016**). L'essence qu'on peut en extraire présente une odeur très forte et assez désagréable (**Barbier**, **1963**). L'espèce supporte la mi-ombre, tolère assez bien le froid et préfère les endroits ensoleillés et les sols riches (**Chu et Kemper**, **2001**).

Les tiges sont multiples, d'une longueur de 20 à 40 cm, d'une couleur grisâtre, ramifiées, carrées, poussant souvent le long du sol puis se plient vers le haut et sont assez densément poilues (**Besombes, 2008**). Les parties inférieures sont boisées et rugueuses (**Siddiqui et al. 2019**).

Les feuilles sont assez petites, grisâtres, tomenteuses, opposées, de 2 à 4 cm de long, sessiles, oblongues, lancéolées, linéaires, étroites et recourbées sur les bords (**Besombes,2008**; **Benabdelkader, 2012**). Elles sont sans dents, ni lobes, appariées ou groupées à des nœuds, parfumées lorsqu'elles sont écrasées (**Siddiqui et al. 2019**).

Les fleurs sont de couleur mauve foncé, organisées en épis courtement pédonculés, ovales ou oblongs, compacts, quadrangulaires, surmontés d'une houppe de grandes bractées stériles et violettes. Les bractées fertiles, larges, sont obovales, sub-trilobées, membraneuses, veinées, plus courtes que le calice, très velu. Les carpelles ovales sont à trois angles (**Jullien, 2016**) (**Fig. 2**). La floraison est plus précoce que chez les autres lavandes. Elle se déroule d'Avril à Mai, puis en automne (**Giray et al. 2008**).

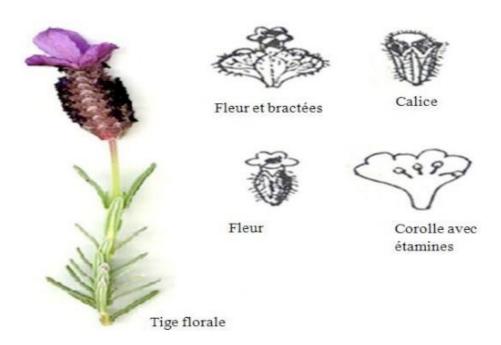


Figure 2 : Illustration de la partie aérienne fleurie de *Lavandula stoechas* L. (d'après Benabdelkader, 2012).

## II.1.4. Intérêt commercial, nutritionnel et pharmacologique

Lavandula stoechas L. est une espèce végétale bien connue et utilisée à travers tout le pourtour méditerranéen pour ses vertus médicinales, principalement attribués à sa teneur en huiles essentielles. Elle était utilisée par les médecins musulmans, qui la considéraient comme céphalique (tonique), résolvante, désobstruante et carminative. Ils la prescrivaient pour lutter contre les infections pulmonaires et pour l'expulsion des humeurs bilieuses et flegmatiques (Said, 1996).

Aujourd'hui, la lavande est généralement utilisée dans la préparation des parfums, les savons et les produits pharmaceutiques (Menaceur et al. 2016; Souihi et al. 2017). L'huile essentielle de la lavande est largement employée dans l'industrie du parfum (eaux de Cologne, savons, vernis, lotions pour la peau, démaquillants, etc.). En parfumerie, la lavande fixe et stabilise toutes les essences de fleurs entre elles pour éviter que le parfum ne vire, de plus, la lavande fine est indispensable pour la bonne tenue des parfums puisqu'elle sert de note de cœur, apparaissant entre deux et quatre heures après la pose du parfum (Schauenberget Paris, 2010).

L'huile essentielle de la lavande est également un précieux remède des premiers secours, puisqu'elle accélère la guérison des brûlures des plaies (action cicatrisante et réparatrice) et désinfecte les plaies contre les problèmes dermiques (Gören et al. 2002 ; Mennal et Chennafi, 2015). Elle présente aussi des effets positifs sur les infections urinaires, les maladies cardiaques, l'eczéma, contre le diabète, la fièvre, les douleurs menstruelles féminines, les calculs rénaux, l'anthrax, l'otite, l'hypertension et dans le traitement de l'infertilité (Skoula et al. 1996 ; Chu et Kemper, 2001 ; Ozturk et al. 2012). De plus, la lavande papillon a un effet anti-inflammatoire, anti-carcinogène, antidépresseur, antioxydant expectorant, stimulant et antimicrobien (Gören et al. 2002 ; Sosa et al. 2005 ; Giray et al. 2008).

En Algérie, *L. stoechas* est très connue sous le nom local "*Helhal*" et est largementdistribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Dans la médecine populaire locale, les parties aériennes, surtout les inflorescences sont utilisées comme un agent antiseptique et stimulant. Dans la cuisine, elles sont utilisées comme herbe culinaire pour préparer un type particulier de couscous (*Mahmoudi*, 1982 *In* Benabdelkader, 2012).

## II.2. Généralités sur la germination

## II.2.1. Définition

La germination se définit comme « Le phénomène par lequel l'embryon croît en utilisant les réserves de la graine». C'est un processus dont les limites sont le début de l'hydratationde la semence et le tout début de la croissance de la radicule (**Evenari, 1957**). Une semence est considérée comme germé, lorsque la radicule a percé les enveloppes, ou elle est visiblement allongée (**Bewley, 1997**).

## II.2.2. Conditions requises pour la germination

Pour germer, une semence exige la réunion de conditions favorables :

II.2.2.1. L'eau : La germination exige obligatoirement de l'eau, celle-ci doit être apportée à l'état liquide. L'eau pénètre par capillarité au niveau des 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. Conséquence, la division des cellules est initiée (Chaussat etLe Deunff, 1975).

II.2.2.2. L'oxygène : Comme pour l'eau, la germination exige obligatoirement de l'O<sub>2</sub>. Une faible quantité d'oxygène serait suffisante pour permettre la germination des semences. Selon Meyer et Carlson (2004), l'oxygène est contrôlé par les enveloppes qui constituent une barrière, mais en même temps une réserve.

II.2.2.3. Température : La température 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'O<sub>2</sub> dans l'embryon (Chaussat et Le Deunff, 1975).

**II.2.2.4. Lumière :** La lumière 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 al. 1990**).

## II.2.3. Phases de la germination

La germination des semences se déroule en 3 phases (**Fig. 3**) :

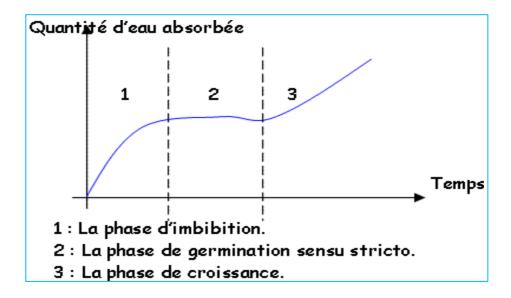


Figure 3 : Courbe théorique des différentes phases de la germination (Côme, 1975).

**II.2.3.1. Phase d'imbibition :** Phase qui 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**).

II.2.3.2. Phase de germination au sens strict : Elle 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 les graines. C'est le cas des gibbérellines qui vont activer la synthèse d'hydrolases ( $\alpha$ -amylases, nucléases et protéinases) nécessaires à la dégradation des réserves, à la division et l'élongation cellulaire. Les  $\alpha$ - 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 avecla percée du tégument par la radicule, rendue possible grâce à l'allongement des cellules (**Heller et al. 2004**).

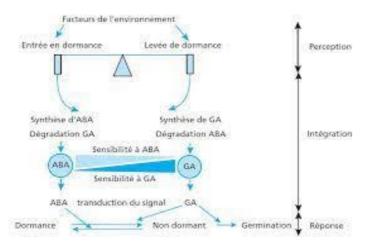
II.2.3.3. Phase de croissance post-germinative : Cette phase est caractérisée par une reprise de l'absorption d'eau et une augmentation de la consommation d'oxygène, elle correspond à un processus de croissance de la radicule puis de la tigelle (Hopkins, 2003).

## II.2.4. Entraves à la germination

Chez de nombreuses plantes, la germination des graines n'est pas immédiate et nécessite le passage par une période dite de dormance. C'est un état provisoire dans lequel des graines viables ne peuvent pas germer même dans des conditions favorables. Cet état se caractérise par une absence virtuelle d'activité métabolique et/ou par un manque virtuel de développement et de croissance (Hilhorst et al. 2010).

La dormance est liée à la présence d'inhibiteurs, la présence de protéines photosensibles ou chromoprotéines, l'imperméabilité des enveloppes à l'eau ou à l'O<sub>2</sub>, et/ou à la résistance mécanique des enveloppes. C'est une propriété innée qui est définie par des facteurs génétiques et environnementaux pendant le développement de la graine (**Bewley, 1997**).

La dormance est régulée de façon complexe par des signaux endogènes à la graine mais également par des facteurs environnementaux. Au sein de la graine, la balance hormonale Acide Abscissique (ABA) / Acide Gibbérellique (GA) est un régulateur majeur de la dormance, l'ABA favorisant la dormance, le GA l'inhibant (Matilla et Matilla-Vásquez, 2008) (Fig. 4).



**Figure 4** : Induction et levée de la dormance contrôlées par les interactions entre facteurs de l'environnement et la balance hormonale ABA / GA (**Peycru et al. 2010**).

## II.2.4.1. Types de dormance : on distingue deux types de dormance primaire et secondaire.

- La dormance primaire : s'installe pendant la formation des semences. Il s'agit d'un état de repos profond qui se produit sous l'influence des facteurs internes de nature tégumentaire ou embryonnaire. L'installation de ce type de dormance est dépendante de l'ABA. Une surexpression des enzymes de biosynthèse de l'ABA favorise la dormance, tandis que des graines déficientes en ABA, ne présentent pas de dormance (Nambara et Marion-Poll, 2005).
- La dormance tégumentaire : les téguments assurent normalement la protection des graines mais dans de nombreux cas ils peuvent empêcher la germination en jouant un rôle de barrière physique (résistance mécanique, imperméabilité à l'eau) ou d'ordre chimique (piégeage de l'O<sub>2</sub> par des composés phénoliques, présence d'inhibiteurs de la germination dans les téguments).
- La dormance morphologique ou embryonnaire : est due à la présence d'un embryon peu développé au moment de la dissémination des graines (Baskin et Baskin, 1998). La germination ne peut avoir lieu tant que l'embryon n'est pas arrivé au terme de sa croissance. Aussi, cette dormance impliquerait les cotylédons, ainsi que les inhibiteurs de germination dont l'ABA (Bewley et Black, 1994).
- La dormance secondaire : elle apparaît après la récolte pendant le stockage sousl'action de divers facteurs externes (température, O<sub>2</sub>, lumière) défavorables à la conservation (**Finch-Savage et Leubner-Metzger, 2006**). La mise en place de cette dormance semble également dépendante des teneurs en ABA (**Zhang et al. 2009**).
- II.2.4.2. Levée des dormances : est accomplie par divers mécanismes incluant des interactions complexes entre l'environnement et les facteurs internes (Finkelstein et al.2008). Elle est caractérisée par une augmentation de la biosynthèse des GA et une dégradation de l'ABA (Finch-Savage et Leubner-Metzger, 2006) (Fig. 4). Pour lever la dormance, plusieurs procédés sont préconisés en fonction des types de semences, comme la stratification froide (vernalisation) ou chaude (estivation), la scarification (mécanique, chimique ou physique) ou bien l'élimination des substances inhibitrices (Bacchetta et al. 2006).

## II.3. Métaux lourds

## II.3.1. Définition

Le terme métaux lourds désigne les éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes, caractérisés par une forte masse volumique supérieure à 5 g/cm<sup>3</sup> (**Adriano**, **2001**) (**Tab. 2**).

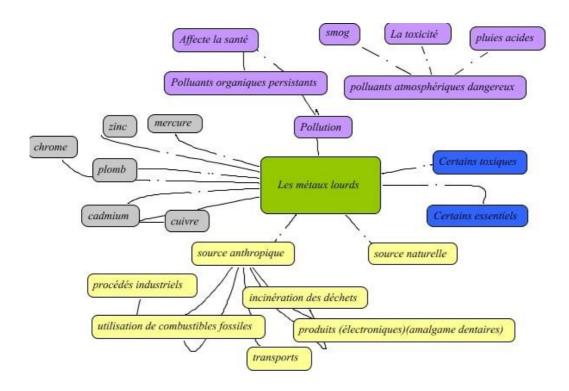
**Tableau 2**: Tableau périodique des éléments de Mendeleïev où sont représentés les éléments métaux lourds de densité supérieure à 5 g/cm³ (d'après **Fourest, 1993**).

Blo	oc S	Bloc p															
Н				Mét	aux l	ourds						He					
Li	Be	<u></u>												N	0	F	Ne
Na	Mg			Bloc d									Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Te	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Ti	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac			Bloc f												
	Lanthanides Ce Pr Nd Pm Sm Eu Gd Tb								Tb	Dy	Но	Er	Tm	Yb	Lu		
Transuraniens			15	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Cf	Bk	Es	Fm	Md	No	Lr

Les métaux lourds sont répartis en 2 types distincts en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques, les métaux essentiels et les métaux toxiques (**Fig. 5**) :

II.3.1.1. Métaux essentiels ou oligo-éléments: Il s'agit d'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 métaux lourds peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil; c'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn) et du fer (Fe). Par exemple, le zinc (Zn) à la concentration du milli-molaire, est un oligo-élément qui intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques (déshydrogénases, protéinases, peptidases) et joue un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides (Kabata-Pendias et Pendias, 2001).

**II.3.1.2. Métaux toxiques :** Il s'agit de métaux qui ont un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg) et du cadmium (Cd) (**Loué, 1993**).



**Figure 5**: Principaux métaux lourds, source et effets sur les organismes et l'environnement (http://cmap.ulaval.ca/rid).

## II.3.2. Pollution par les métaux lourds

Les métaux lourds existent naturellement mais en quantités très faibles dans les sols, l'eau et l'air. Certaines activités humaines, comme la combustion du charbon, du pétrole, des déchets et certains procédés industriels en rediffusent en revanche une grande quantité dans l'environnement. Les métaux lourds ne posent pas seulement un problème pour la pollution de l'air : ils sont biopersistants, perturbent les écosystèmes, détériorent les sols, les eaux de surface, les forêts et les cultures et s'accumulent dans la chaîne alimentaire (**Fig. 5**). Les principaux métaux lourds émis dans l'atmosphère par les activités humaines sont le zinc (Zn), le cuivre (Cu), le nickel (Ni), le plomb (Pb), le chrome (Cr), le sélénium (Se), l'arsenic (As), le mercure (Hg) et le cadmium (Cd) (**Fabrégat, 2010**).

II.3.2.1. Toxicité induite par le cadmium : on identifie le cadmium comme un polluant extrêmement toxique. Quelle que soit son origine, le cadmium présent dans le sol ne se décompose ni par voie chimique, ni par voie biologique. Il est accumulé dans les strates superficielles des sols et peut être entraîné par les eaux de ruissellement pour atteindre les

nappes phréatiques profondes. Dans le cas d'une accumulation du cadmium dans les strates superficielles des sols, il peut être absorbé par les plantes, ce qui représente un problème majeur pour la santé humaine à travers la chaîne alimentaire. Une exposition au cadmium est source d'un grand nombre d'effets nocifs, les lésions rénales et le cancer figurant parmi les plus graves (Godt et al. 2006).

II.3.2.2. Toxicité induite par le nickel : le nickel est retrouvé en tant que contaminant dans l'engrais, l'eau d'irrigation et souvent dans les boues d'épuration et les déchets d'origine animale. Typiquement, il est moins toxique que les autres métaux lourds. Des toxicités se produisent chez les plantes ornementales ligneuses, si les niveaux du tissu végétal dépassent 80-120 ppm. Les plantes sensibles, comme la tomate, peuvent souffrir de toxicités dépassant 10 ppm. Les débuts d'une toxicité en nickel ne démontrent pas de symptômes visuels clairs, mais la croissance des pousses et des racines est souvent réprimée. Éventuellement, une chlorose interveinale ou bien des tâches chlorotiques apparaissent sur les nouvelles feuilles, suivi d'un arrêt du développement des feuilles et une nécrose se développant depuis les bordsdes feuilles, jusqu'à la mort de la plante (Fabiano et al. 2015).

## II.3.3. Phytoremédiation

La phytoremédiation (grec *phyto*: plante, latin *remedium*: corriger un méfait) est définie comme l'utilisation des plantes pour éliminer ou transformer les polluants en composés moins toxiques. Certaines plantes ont développés des mécanismes de résistance pour faire face à ces métaux. Cela consiste à simplement retarder l'absorption des métaux lourds et ainsi diminuer au maximum la concentration en éléments toxiques dans l'organisme. Sinon, les plantes séquestrent ces métaux dans leurs vacuoles ou les accumulent dans des structures biendéfinies comme les trichomes. Dans les deux cas, ces végétaux évitent que les métaux lourds entrent en contact avec la structure fine cellulaire et perturbent le déroulement du métabolisme (**Cheng, 2003**). Les diverses stratégies utilisées par ces plantes pourcontrecarrer les effets de ces métaux sont ainsi résumées (**Fig. 6**):

II.3.3.1. Stratégie de la phytovolatilisation : certaines plantes absorbent les contaminants, puis les rejettent dans l'atmosphère. Le contaminant une fois arrivé au niveau des feuilles, sera transformé ou bien dégradé afin d'en créer une substance moins toxique et moins néfastepour la plante. Cette substance sera ensuite libérée dans l'air (Sterckeman et al. 2011).

II.3.3.2. Stratégie de la phytoextraction : certaines plantes absorbent les contaminants (surtout les métaux, les métalloïdes et les radionucléides) avec leurs racines, puis les accumulent en grandes quantités dans leurs parties aériennes (tiges et feuilles). Ces plantes doivent être récoltées et éliminées comme des déchets spéciaux (Sterckeman et al. 2011).

II.3.3.3. Stratégie de la phytodégradation : dans ce cas de figure, certaines plantes absorbent puis décomposent les contaminants par l'action d'enzymes ou par des processus métaboliques comme l'oxydation et la réduction. Par ces processus, les polluants organiques sont dégradés puis libérés hors de la plante (Sterckeman et al. 2011).

II.3.3.4. Stratégie de la phytostabilisation et/ou de la rhizodégradation : ces stratégies se concentrent au niveau des parties racinaires. Les plantes qui utilisent ces stratégies sont capables de séquestrer et/ou d'immobiliser des polluants en les absorbant au sein même des racines. Elles peuvent également libérer une enzyme qui convertit les contaminants en molécules moins toxiques. Cette stabilisation limite la migration des éléments nuisibles dans le sol par la lixiviation, l'eau et le vent (Sterckeman et al. 2011).

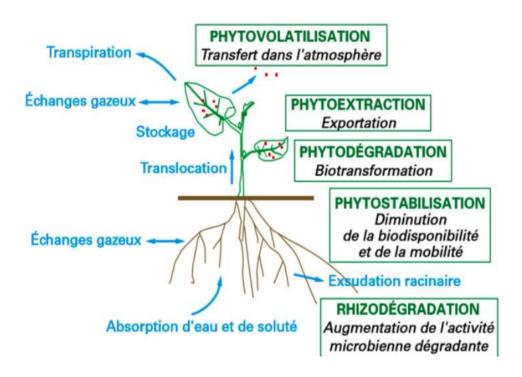
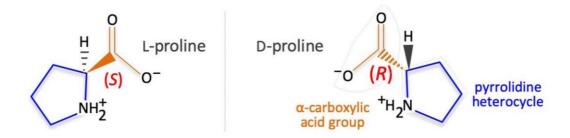


Figure 6 : Stratégies d'action des plantes sur les métaux lourds au niveau des racines et/ou des feuilles (Sterckeman et al. 2011).

## II.4. Proline

## II.4.1. Définition

La proline est un acide  $\alpha$ -aminé dont l'énantiomère L est l'un des 22 acides aminés protéinogènes. C'est le seul acide aminé protéinogène ayant une amine secondaire et non primaire, ce qui lui confère une géométrie particulière tendant à interrompre les structures secondaires des protéines telles que les hélices  $\alpha$  et les feuillets  $\beta$  (**Fig. 7**). Dans le monde animal, la proline intervient notamment dans la synthèse du collagène et la cicatrisation. Dans le monde végétal, la proline est impliquée dans la germination des graines, la floraison et d'autres phases de développement des plantes (**Patriarca et al. 2021**).

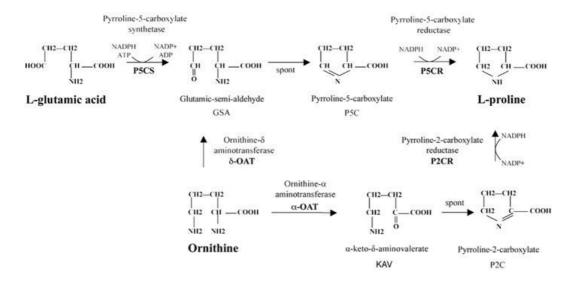


**Figure 7** : Les 2 formes énantiomères de la proline L et D correspondant à l'acide pyrrolidine-2-carboxylique (**Patriarca et al. 2021**).

## II.4.2. Biosynthèse de la proline

La proline emprunte 2 voies possibles pour sa synthèse :

II.4.2.1. Voie de l'acide glutamique : c'est la principale voie de synthèse de la proline. Elle se déroule au niveau du cytoplasme ou bien dans le chloroplaste et nécessite l'intervention d'une enzyme importante, la P5CS ( $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthétase). Cette enzyme catalyse une réaction qui se déroule en deux étapes, en présence de l'ATP et le NADPH. Cette réaction permet de générer tout d'abord le glutamate η-semialdéhyde (GSA). Ce dernier se cyclise spontanément en  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate (P5C), qui est ensuite réduit en proline dans une réaction catalysée par une seconde enzyme, la  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate réductase (P5CR). La P5CR est une enzyme NADPH dépendante (Delauney et Verma, 1993 ; Trovato et al. 2008) (Fig. 8).



**Figure 8** : Biosynthèse de la proline via la voie principale de l'acide glutamique ou de la voie accessoire de l'ornithine (**Trovato et al. 2008**).

II.4.2.2. Voie de l'ornithine : cette voie de synthèse peut se dérouler selon deux façons. La première fait intervenir une ornithine- $\alpha$ -aminotransférase ( $\alpha$ -OAT) qui génère une pyrroline-2-carboxylate (P2C), puis la proline en présence d'une pyrroline-2-carboxylate réductase (P2CR) et du NADP<sup>+</sup>. La seconde fait intervenir une ornithine-δ-aminotransférase (δ-OAT) qui redonne le glutamate  $\eta$ -semialdéhyde (GSA), un intermédiaire de la synthèse de la proline via la voie du glutamate (**Delauney et Verma, 1993 ; Trovato et al. 2008**) (**Fig. 8**).

## II.4.3. Catabolisme de la proline

Le catabolisme de la proline se déroule au niveau de la mitochondrie. La proline redonne du glutamate avec l'intervention de deux enzymes : la proline déshydrogénase (ProDH) et la  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate déshydrogénase (P5CDH). La première enzyme catalyse l'oxydation de la proline en  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate (P5C) et la seconde convertit le P5C en glutamate (**Trovato et al. 2008 ; Szabados & Savouré, 2010**) (**Fig. 9**)

Figure 9 : Catabolisme de la proline mitochondriale (Trovato et al. 2008).

## II.4.4. Rôles de la proline

Chez de nombreuses espèces végétales, il a été constaté des accumulations de proline, lorsqu'elles étaient exposées à divers types de stress environnementaux. Un nombre croissant de rapports plaide pour une corrélation positive entre ces accumulations et la gestion métabolique de ces stress par les plantes. Elle a un rôle d'osmolyte, mais aussi un chélateur de métaux et à des propriétés antioxydantes (Hong et al. 2000 ; Szabados & Savouré, 2010 ; Verslues & Sharma, 2010) (Fig. 10).

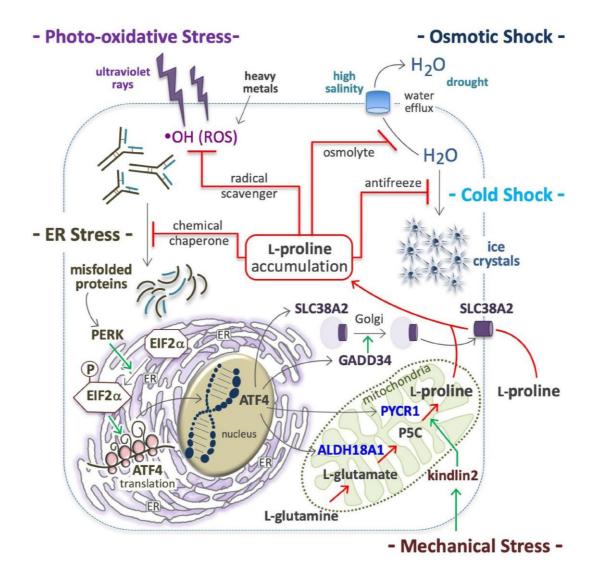


Figure 10 : Les multiples rôles de la proline nouvellement synthétisée en réponse à différents types de stress (Trovato et al. 2008).

# MATÉRIEL & MÉTHODES

## III.1. Matériel

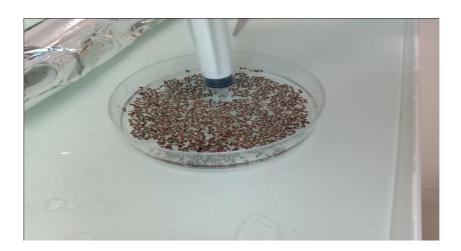
## III.1.1. Matériel végétal

## III.1.1.1. Origine des graines

Les graines de la lavande papillon (*Lavandula stoechas L*.) ont été récoltées au mois de juin 2020 à partir des plantes poussant dans la région de *Tazeboujte*, située aux alentours du cheflieu de la wilaya de Bejaia (région du nord-est de l'Algérie ; 36°44' N ; 05°01' E).

## III.1.1.2. Traitement des graines

Les graines sont tout d'abord décortiquées des épis, puis stérilisées dans une solution homogène d'eau de javel à 5%. Les graines sont trempées dans cette solution pendant 3 mn, suivi d'unrinçage à l'eau distillée répété 3 fois. Les graines récupérées à l'aide d'une passoire sontmises à sécher sur du papier absorbant (**Fig. 11**).



**Figure 11**: Opération de désinfection de surface des graines de *Lavandula stoechas* L. par une solution d'eau de javel à 5%.

## III.1.1.3. Répartition et modalités de germination des graines

La germination des graines de *L. stoechas* L. se déroule en boîtes de Pétri (diamètre de 90 mm), tapissées de papier absorbant. Dans chacune des boîtes (27 boîtes au total), 25 graines sont déposées (sur 675 graines au total) et réparties en 3 principaux lots (**Fig. 12**) :

- Lot témoin auquel on rajoute 7 mL d'eau distillée uniquement ;

- Lot traité au nickel auquel on rajoute 7 mL d'une solution de concentration bien définie du NiSO<sub>4.6</sub>H<sub>2</sub>O;
- Lot traité au cadmium auquel on rajoute 7 mL d'une solution de concentration bien définie en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.8/3H<sub>2</sub>O.



**Figure 12**: Préparation des boîtes de Pétri et mise en place des graines de *Lavandula stoechas* L. pour germination.

Pour chacun des lots, les expérimentations sont répétées 3 fois et chacune des boîtes a été recouverte et scellée par du parafilm pour amoindrir les pertes d'eau ou de la solution durant toute la durée de la germination. Ces boîtes sont entreposées dans une étuve à l'obscurité préalablement réglée à une température de 20°C.

Tous les deux jours, les graines de la lavande qui ont germées sont repérées et dénombrées. Le critère adopté est celui de la percée de la radicule (**Evenari**, 1957). Dés quela radicule sort du tégument, la graine est comptabilisée comme une graine germée. Ces dénombrements sont répétés durant une vingtaine de jours, durée totale de suivi des germinations.

## III.1.1.4. Plantules issues des germinations

Après la vingtaine de jours, au final du suivi de la germination, toutes les graines qui ont germés et donnés de jeunes plantules sont récupérées et réservées pour étudier plusieurs paramètres : le poids frais, le poids sec, la teneur en eau, les mesures de longueur de la partie aérienne et de la partie souterraine, ainsi que l'extraction et le dosage de la proline.

## III.1.2. Préparation des solutions de traitement des graines

## III.1.2.1. Solution de NiSO<sub>4</sub>

Le sulfate de nickel utilisé est hexahydraté (NiSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O). Il se présente sous l'apparence d'un solide cristallin bleu ou vert-émeraude, inodore, d'un goût doux et astringent, légèrement efflorescent (**Fig. 13**).



Masse molaire : 262,85 g/mol Solubilité : 100 mg/mL à 20°C

Densité: 2,07

Formule: NiSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O

Nom : Sulfate de nickel hexahydraté.

**Figure 13**: Présentation des cristaux de sulfate de nickel hexahydraté (http://fr-wikipedia.org/wiki/Sulfate\_de\_nickel(II)) et ses quelques caractéristiques physico-chimiques.

Pour imposer un stress métallique au nickel, le NiSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O a été utilisé en solution aux concentrations de 100, 200, 300 et 400 ppm.

## III.1.2.2. Solution de Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

Les nitrates de cadmium appartiennent à la famille des composés inorganiques ayant la formule générale de Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.xH<sub>2</sub>O. La forme utilisée durant notre travail est Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.8/3H<sub>2</sub>O, solide cristallin incolore déliquescent, tendant à absorber suffisamment d'humidité de l'air pour former une solution aqueuse (**Fig. 14**).



Masse molaire: 256,2 g/mol Couleur: incolore ou blanc Formule: Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.8/3H<sub>2</sub>O Nom: Nitrate de cadmium

**Figure 14**: Présentation des cristaux de nitrate de cadmium tétrahydraté (http://fr-wikipedia.org/wiki/Nitrate\_de\_cadmium) et ses quelques caractéristiques physico-chimiques.

Pour imposer un stress métallique au cadmium, le Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.8/3H<sub>2</sub>O a été utilisé en solution aux concentrations de 100, 200, 300 et 400 ppm.

## III.2. Méthodes

## III.2.1. Paramètres de la germination calculés

## III.2.1.1. Pourcentages cumulés de germination

Les graines germées sont dénombrées toutes les 48 heures sur la durée totale de 20 jours de la germination. Les pourcentages cumulés moyens de germination sont exprimés selon la relation suivante :

## III.2.1.2. Pourcentages finaux de germination

Les pourcentages finaux de germination des graines germées ont été déterminés au terme du 20<sup>ème</sup> jour du suivi de la germination selon la relation suivante (**Doran and Gunn, 1987**) :

## III.2.1.3. Temps moyens de germination

C'est un mode d'expression de la vitesse de germination d'une population de semences mises à germer dans des conditions contrôlées. Le temps moyen de germination est déterminé d'après la formule suivante (**Redondo-Gomez et al. 2007**) :

Temps moven de germination (jours) = 
$$\sum (N_i \times D_i) / N$$

Où  $N_i$  est le nombre de graines germées au jour i,  $D_i$  est la période de germination en jours et N est le nombre total de graines germées.

## III.2.2. Statut de l'eau

## III.2.2.1. Mesure du poids frais

Au bout du  $20^{\text{ème}}$  jour, les plantules sont récupérées et pesées pour déterminer le poids frais (PF) de chacune, lu directement à la balance électronique de précision.

## III.2.2.2. Mesure du poids sec

Pour déterminer le poids sec (*PS*), une seconde pesée des plantules a été réalisée après une dessiccation de 48 h au four, préalablement réglé à 80°C.

## III.2.2.3. Calcul de la teneur en eau

A partir des mesures du poids frais et du poids sec, on détermine la teneur en eau de chacune des plantules selon la relation suivante :

## III.2.3. Mesures biométriques

### III.2.3.1. Mesure de la racine

Juste après avoir déterminé le poids frais de chacune des plantules, des mesures de leurs parties racinaires (en cm) ont été effectuées, et ce après avoir pris soin d'étaler soigneusement cette partie le long d'une feuille millimétré.

## III.2.3.2. Mesure de la partie aérienne

La partie aérienne de chacune des plantules est mesurée (en cm) de façon identique que ce qui a été réalisé pour la partie racinaire par le biais d'un papier millimétré.

## III.2.4. Extraction et dosage de la proline

## III.2.4.1. Extraction

Les matières sèches de l'ensemble des plantules ayant germés dans une seule boîte de pétri de chacun des 3 lots (témoins, traités au Ni et traités au Cd) ont été utilisées pour l'extraction de la proline. Ces matières sèches sont broyées séparément dans un mortier d'abord à sec, puis dans 3 mL de méthanol qu'on rajoute mL par mL au broyat. Après récupération des extraits dans des tubes à essais et une agitation énergique au vortex, les tubes sont portés au bain-marie pendant 30 mn à 85°C. Pour éviter l'évaporation du méthanol durant cette phase de chauffage, les tubes ont été hermétiquement fermés par des bouchons après les avoir enveloppés de parafilm.

### III.2.4.2. Dosage

Pour le dosage de la proline, la méthode de **Troll** et **Lindsley** (1955) simplifiée par **Bates** et al. (1973) a été utilisée. La proline présente la faculté de réagir en milieu acide et à chaud avec la ninhydrine, en donnant un composé rouge orangé soluble dans le toluène ou le benzène.

On prélève 1 mL de chacun des extraits méthanoliques à l'aide d'une micropipette auquel on rajoute successivement : 1 mL d'acide acétique glacial et 1 mL de réactif à ninhydrine (1,25 g de ninhydrine dissous dans 30 mL d'acide acétique glacial + 7,5 mL d'acide orthophosphorique à 85% + 12,5 mL d'eau distillée). Après une agitation au vortex, le mélange est porté à ébullition (100°C) dans un bain-marie durant 1 heure de temps.

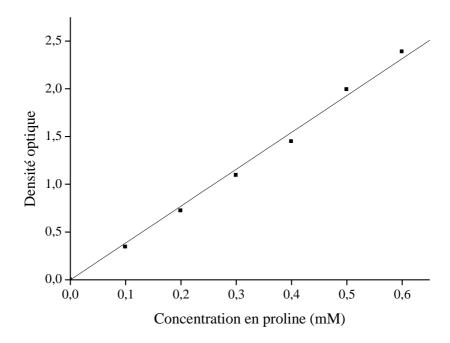
Après refroidissement des tubes, 4 mL de toluène sont rajoutés au mélange ainsi qu'une pincée de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour éliminer l'eau qu'il renferme. Après une agitation énergique au vortex, deux phases se développent au bout d'une nuit de décantation : une phase supérieure contenant la proline dans le toluène et une phase inférieure contenant les acides. La phase supérieure est récupérée par une pipette pasteur. La densité optique est mesurée au spectrophotomètre SPECORD 210 (Analytic Jena, Germany) à une longueur d'onde de 515 nm.

### III.2.4.3. Courbe étalon

La courbe d'étalonnage est réalisée à l'aide d'une solution mère de proline à 1 mM. Les dilutions préparées varient de 0,1 à 0,6 mM (**Fig. 15**). La quantité en proline moyenne de 3 essais pour chacun des lots et pour chacune des concentrations appliquées sera exprimée aussi bien en mg/g de poids frais qu'en mg/100 mg de poids sec.

### III.2.5. Etude statistique

Les résultats présentés expriment pour l'ensemble des analyses une valeur moyenne de 3 répétitions ± écart type. Les données liées au poids frais, poids sec, teneur en eau, mesures des parties racinaires et aériennes ainsi que la quantification de la proline ont été analysées avec le logiciel STATISTICA 5.5 (StatSoft 1999). Une analyse de variance (ANOVA) a été réalisée pour comparer plusieurs moyennes. Une comparaison post-hoc est effectuée avec le test LSD ou comparaison planifiée afin de déterminer la significativité de la différence entre les moyennes au seuil de 0,05.



**Figure 15** : Courbe étalon de la proline réalisée à l'aide d'une solution mère de proline de 1 mM (densité optique lue à  $\lambda = 515$  nm).

# RÉSULTATS & DISCUSSION

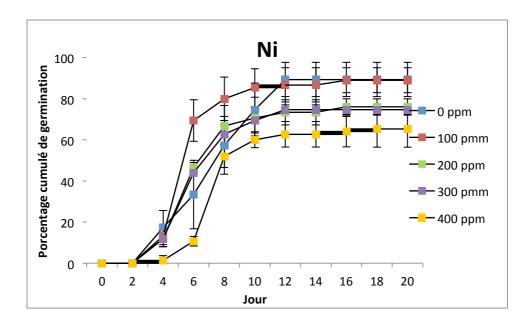
### IV.1. Résultats

### IV.1.1. Résultats relatifs à la germination

### IV.1.1.1. Pourcentages cumulés de germination des graines traitées au NiSO<sub>4</sub>

Les graines témoins de *L. stoechas* L. ne commencent leur germination qu'au delà du 2<sup>ème</sup> jour. Idem pour les lots des traités par le Ni aux concentrations de [100, 200 et 300 ppm]. La concentration de [400 ppm] retarde un peu plus le début de la germination et allonge la germination au delà du 4<sup>ème</sup> jour. La concentration de [100 ppm] favorise une germination accrue des graines entre le 4<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> jour, qui se poursuit entre le 6<sup>ème</sup> et le 8<sup>ème</sup> jour, pour finalement se stabiliser autour d'une valeur moyenne de 85,3% atteinte au 10<sup>ème</sup>, puis n'évolue que peu le reste du temps du suivi de la germination (**Fig. 16**).

Avec des concentrations en Ni de [200 et 300 ppm], les pourcentages de germination cumulés évoluent de façon concomitante, mais moins rapidement que ce qui a été enregistré avec la concentration de [100 ppm]. Avec ces deux traitements, près de 70% des graines germent au bout du 10ème jour, pour n'évoluer que peu les jours suivants des dénombrements effectués (**Fig. 16**).

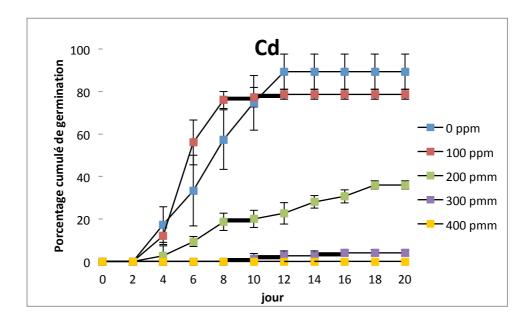


**Figure 16**: Evolution des pourcentages cumulés moyens de germination des graines de *Lavandula stoechas* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> [100; 200; 300 et 400 ppm] en fonction du temps.

A noter que les graines qui n'ont pas été traitées au Ni répondent de la même façon que les graines soumises aux 2 traitements imposés par les concentrations de [200 et 300 ppm]. En revanche, la concentration de [400 ppm] retarde non seulement le déclenchement de la germination et un pourcentage cumulé moyen de germination de seulement 60% est atteint au  $10^{\text{ème}}$  jour, pour n'augmenter que peu le reste du temps. La germination dans ce cas de figure n'est importante que durant la période qui s'étale du  $6^{\text{ème}}$  au  $8^{\text{ème}}$  jour du suivi de la germination (**Fig. 16**).

### IV.1.1.2. Pourcentages cumulés de germination des graines traitées au Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

La courbe de germination des graines témoins de *L. stoechas* L. est de type sigmoïde, qui évolue distinctivement des lots des traités par le Cd. En effet, les graines témoins adoptent un profil de germination progressif, du 4<sup>ème</sup> (17,3%) au 12<sup>ème</sup> (89,3%) jour, pour ne plus évoluer le reste du temps. La concentration de [100 ppm] en Cd rehausse plus que les témoins la germination des graines, mais uniquement au 6<sup>ème</sup> (56%) et au 8<sup>ème</sup> (76%) jour. Au delà, peu de graines germent et les pourcentages cumulés moyens obtenus ne sont pas de même niveau que ceux des témoins (**Fig. 17**).



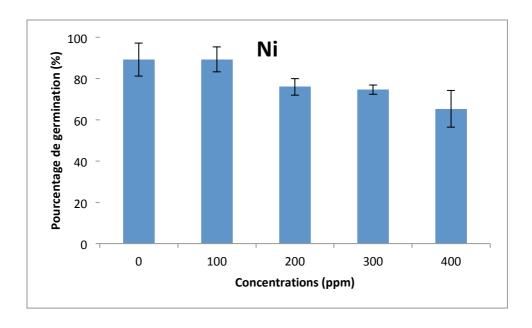
**Figure 17**: Evolution des pourcentages cumulés moyens de germination des graines de *Lavandula stoechas* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> [100; 200; 300 et 400 ppm] en fonction du temps.

Avec la concentration de [200 ppm] en Cd, peu de graines germent au cours du temps. En effet, seulement 9% des graines arrivent à germer au bout du 6<sup>ème</sup> jour. Ce pourcentage double une première fois (18,6%) au bout du 8<sup>ème</sup> jour, puis une seconde fois (36%) au bout du 18<sup>ème</sup> jour (**Fig. 17**).

Aux concentrations de [300 et 400 ppm], le Cd est préjudiciable à la germination des graines de *L. stoechas* L. Les rares graines qui germent pour la concentration de [300 ppm] sont enregistrées au bout du 10<sup>ème</sup> jour du suivi de la germination (**Fig. 17**).

# IV.1.1.3. Pourcentages finaux de germination des graines traitées au NiSO4

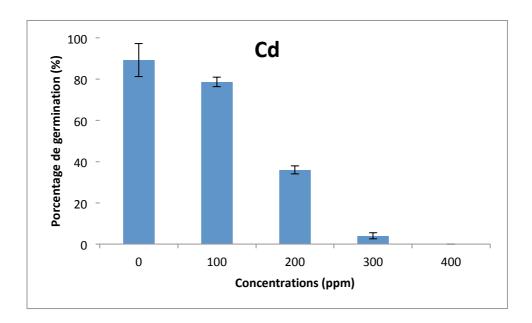
Après 20 jours de suivi de la germination, le pourcentage final atteint par les graines témoins est de 89,2%. Le traitement par la concentration de [100 ppm] en Ni donne un pourcentage final de germination équivalent (89,3%) de celui des graines témoins (89,3%). Cependant, les concentrations de [200 et 300 ppm] font diminuer les pourcentages finaux de germination obtenus, respectivement à 76 et 74,6%. La concentration la plus forte de [400 ppm], réduit encore plus la germination au final des graines de *L. stoechas* L. où seulement 65,3% des graines germent au bout du suivi des expérimentations (**Fig. 18**).



**Figure 18**: Effets des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> [100 ; 200 ; 300 et 400 ppm] sur les pourcentages finaux de germination des graines de *Lavandula stoechas* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm].

### IV.1.1.4. Pourcentages finaux de germination des graines traitées au Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

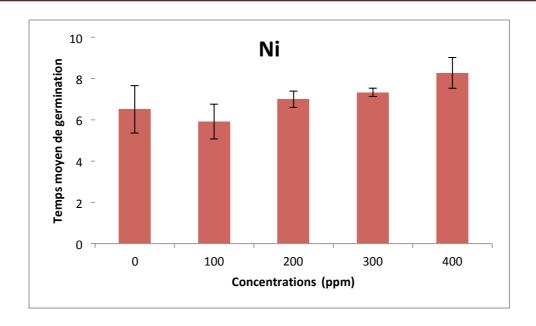
Comparativement aux graines témoins dont le pourcentage de germination obtenu au final des dénombrements est de 89,2%, les graines traitées par la seule concentration de [100 ppm] en Cd, réduit ce pourcentage de près de 10%. La concentration de [200 ppm], réduit encore fortement le pouvoir germinatif au final des graines, étant donné que seulement 36% des graines germent. La concentration de [300 ppm] ne permet la germination que de 4% des graines, tandis que la concentration de [400 ppm] annule la germination des graines de *L. stoechas* L. (**Fig. 19**).



**Figure 19**: Effets des différentes concentrations en  $Cd(NO_3)_2$  [100 ; 200 ; 300 et 400 ppm] sur les pourcentages finaux de germination des graines de *Lavandula stoechas* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm].

### IV.1.1.5. Temps moyens de germination des graines traitées au NiSO<sub>4</sub>

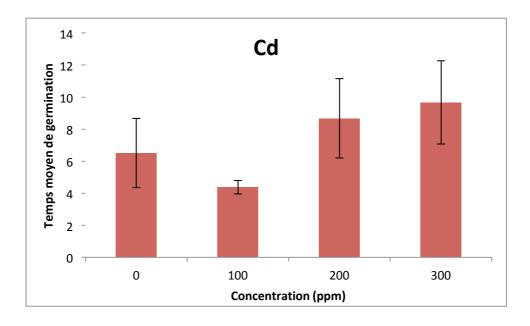
Pour germer, les graines témoins de *L. stoechas* L. nécessitent un temps moyen de germination de 6,5 jours. Avec le traitement au Ni, la concentration de [100 ppm] réduit ce temps à 5,9 jours. En revanche, les autres 3 autres concentrations ne font que rallonger ce temps, qui passe à 6,9 jours pour la concentration de [200 ppm]; à 7,3 jours pour la concentration de [300 ppm] et à 8,2 jours pour la plus forte concentration de [400 ppm] (**Fig. 20**).



**Figure 20**: Effets des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> [100; 200; 300 et 400 ppm] sur les temps moyens de germination des graines de *Lavandula stoechas* L. comparativement au temps moyen de germination mis par les graines témoins [0 ppm].

### IV.1.1.6. Temps moyens de germination des graines traitées au Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

En présence d'une concentration de [100 ppm] en Cd, le temps moyen de germination des graines de *L. stoechas* L. est plus court (4,3 jours) que celui des témoins (6,5 jours) (**Fig. 21**).



**Figure 21**: Effets des différentes concentrations en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> [100 ; 200 ; 300 et 400 ppm] sur les temps moyens de germination des graines de *Lavandula stoechas* L. comparativement au temps moyen de germination mis par les graines témoins [0 ppm].

Lorsque les concentrations en Cd sont de [200 et 300 ppm], les temps moyens de germination sont assez longs, respectivement de 8,6 et 9,6 jours. La concentration de [400 ppm] ne présente pas de temps moyen de germination, étant donné qu'aucune graine n'est arrivée à germer pendant les 20 jours du suivi des dénombrements (**Fig. 21**).

### IV.1.1.7. Comparatif entre les lots de graines traités au NiSO<sub>4</sub> / Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

Les taux cumulés moyens de germination des graines de *Lavandula stoechas* L. ont été suivis pendant une vingtaine de jours. Les dénombrements effectués tous les deux jours pour les deux principaux traitements appliqués aux graines ont montrés :

- ✓ Un temps de latence de 2 jours est nécessaire pour que les graines commencent à germer dans le cas du traitement au Ni avec les concentrations de [100, 200 et 300 ppm]. Ce temps de latence passe à 4 jours pour la concentration de [400 ppm]. Le Cd appliqué à une concentration de [100 ppm] nécessite également 2 jours de latence, la concentration de [200 ppm] le porte à 4 jours, pendant qu'un temps de 8 jours est nécessaire pour permettre la germination d'une infime partie des graines [300 ppm] ;
- ✓ Le traitement des graines avec la concentration de [100 ppm] en Ni stimule la germination entre le 4ème et le 6ème jour, plus que chez les témoins. Les deux autres concentrations de [200 et 300 ppm] évoluent progressivement et simultanément, au même titre d'ailleurs que les témoins, pendant les temps allant du 4ème au 8ème jour. La concentration de [400 ppm] ne stimule en contrepartie la germination que pendant le 6ème jusqu'au 8ème jour. C'est ce qui revient avec le traitement au Cd, du moins pour la concentration de [100 ppm], qui progresse également plus que les témoins entre le 4ème et le 8ème jour. La concentration de [200 ppm] marque le pas pendant ce laps du temps et les deux autres concentrations de [300 et 400 ppm] n'assurent que peu sinon aucune germination des graines ;
- ✓ Si la germination des graines témoins progresse jusqu'au 12ème jour, le 8ème jour marque la fin de cette progression au sein des graines traitées avec les différentes concentration en Ni, atteignant pour chacune d'elles les limites de la capacité germinative des graines de *L. stoechas* L. Ceci reste vrai pour la concentration de [100 ppm] en Cd, mais ne s'applique nullement pour la concentration de [200 ppm] qui se prolonge jusqu'au 18ème jour pour voir 36% des graines germer.

Les pourcentages finaux de germination des graines de *Lavandula stoechas* L. renseignent sur l'incidence réelle des deux traitements appliqués aux graines, avec l'influence des différentes concentrations de chacun des traitements sur la capacité germinative obtenue à l'issue du suivi de ce processus de la germination (**Tab. 3**):

**Tableau 3**: Evolution des pourcentages finaux de germination des graines de *Lavandula* stoechas L. sous les effets des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> ou en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

	Pourcentages finaux de germination						
	Témoins	[100 ppm]	[200 ppm]	[300 ppm]	[400 ppm]		
NiSO <sub>4</sub>	89,2	89,33	76,0	74,66	65,33		
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>		78,66	36,0	4,0	0		
Rapport	1	1,13	2,11	18,66			

- ✓ Si la capacité de germination au final des graines de *L. stoechas* L. est de 89,2 % chez les graines témoins. Elle demeure de même ordre lorsque le Ni est apporté à la concentration de [100 ppm], mais décline de 10 à 15% lorsque le Cd est apporté à la concentration de [100 ppm] ou bien lorsque le Ni est apporté aux concentrations de [200 et 300 ppm];
- ✓ La concentration de [400 ppm] en Ni influence négativement la capacité de germination au final des graines, encore plus lorsque c'est le Cd qui est utilisé. La seule concentration de [200 ppm] réduit à 36% le pourcentage final des graines qui germent en présence de cet agent ;
- ✓ L'évolution des rapports NiSO<sub>4</sub> / Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> donne lieu a des rapports qui augmentent au fur et à mesure que l'on augmente la concentration de l'agent métallique. Plus de 10% des graines ne germent pas dès que l'on ajoute du Cd au milieu à la concentration de [100 ppm]. Plus de deux fois plus de graines ne germent pas lorsque le Cd st apporté à la concentration de [200 ppm] par comparaison au traitement avecle Ni à la même concentration.
- ✓ Le pouvoir germinatif des graines est annulé avec l'utilisation du Cd auxconcentrations de [300 et 400 ppm]. Le Ni avec la concentration de [400 ppm] réduit ce pouvoir germinatif de 26% lorsqu'on le compare aux témoins.

La vitesse de germination des graines de *L. stoechas* L. a été déterminée en calculant les temps moyens mis par les graines pour pouvoir germer (**Tab. 4**):

**Tableau 4**: Evolution des temps moyens de germination des graines de *Lavandula stoechas* L. sous les effets des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> ou en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

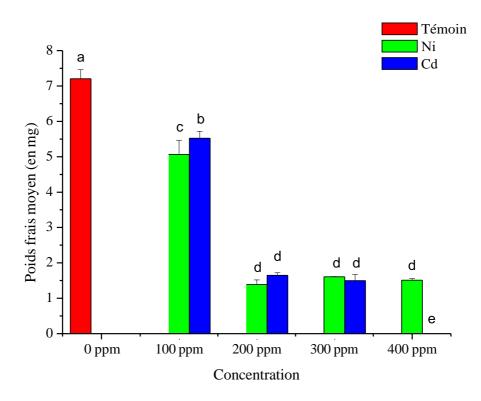
	Temps moyens de germination en jours						
	Témoins	[100 ppm]	[200 ppm]	[300 ppm]	[400 ppm]		
NiSO <sub>4</sub>	6,51	5,91	6,99	7,33	8,28		
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>		4,37	8,66	9,66			
Rapport	1	1,35	0,80	0,75			

- ✓ Il y a lieu de noter que les deux traitements appliqués à la concentration de [100 ppm] en Ni ou bien en Cd, donnent des temps moyens de germination bien inférieurs à ceux des témoins. Malgré que ces temps soient inférieurs au témoin, le rapport Ni / Cd dépasse bien la valeur 1, indiquant que le traitement au Ni est plus favorisé par rapport au traitement au Cd pour la concentration de [100 ppm];
- ✓ En augmentant la concentration du traitement avec le Ni ou le Cd, le temps moyen de germination ne fait qu'augmenter. Quoique la progression relative du traitement au Ni est inférieure à celle imposée par le Cd au vu des rapports enregistrés qui sont bien audessous de 1.

### IV.1.2. Résultats relatifs au statut de l'eau des plantules

### IV.1.2.1. Poids frais des lots de plantules résultants des divers traitements

Au bout des 20 jours du suivi de la germination, les plantules issues de la germination en présence ou en absence de la contrainte métallique ont été toutes récupérées. Par plantule témoin, la mesure du poids frais moyen donne une valeur de 7,2 mg. Les plantules issues du traitement préalable des graines au Ni, exhibent un poids frais moyen inférieur (5,0 mg), lorsque la concentration en Ni est de [100 ppm]. Cette baisse se poursuit de façon plus drastique lorsque la concentration est portée à [200, 300 ou 400 ppm]. Le poids moyen enregistré est identique pour ces 3 concentrations, moyennement de 1,5 mg (**Fig. 22**).



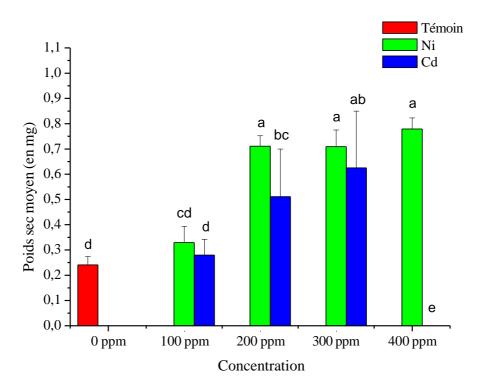
**Figure 22**: Evolution des poids frais moyens par jeune plantule de *Lavandula stoechas* L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0.05$ .

C'est aussi le cas lors du traitement au Cd, puisque les plantules se présentent avec un poids frais moyen bien inférieur à celui des témoins (5,5 mg), lorsque la concentration en Cd est de [100 ppm]. La diminution est encore plus importante lorsque la concentration estportée à [200 ou 300 ppm], où le poids frais moyen enregistré est équivalent pour ces deux traitements, moyennement de 1,5 mg (**Fig. 22**).

### IV.1.2.2. Poids secs des lots de plantules résultants des divers traitements

Le poids sec moyen d'une plantule témoin de *L. stoechas* L. est de 0,24 mg. Les plantules issues du traitement des graines avec le Ni exhibent un poids sec de 0,32 mg, statistiquement identique à celui des témoins, notamment pour la concentration de [100 ppm]. C'est aussi valable pour le Cd (0,28 mg), lorsqu'il est appliqué à la même concentration (**Fig. 23**).

En revanche, les concentrations de [200, 300 ou 400 ppm] en Ni augmentent assezlargement le poids sec moyen des plantules par rapport aux témoins (0,24 mg) ; ce poids étant moyennement de 0,73 mg par plantule et pour chacune des trois concentrations appliquées (**Fig. 23**).

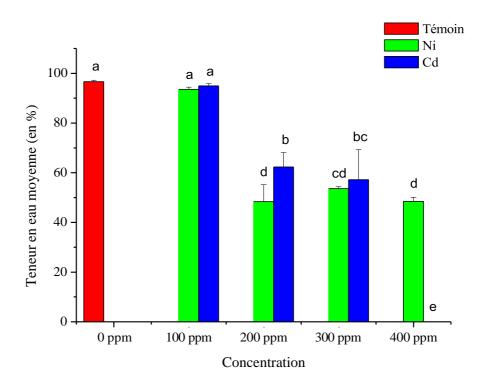


**Figure 23**: Evolution des poids secs moyens par jeune plantule de *Lavandula stoechas* L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en  $Cd(NO_3)_2$  appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0.05$ .

Pareil pour le traitement au Cd aux concentrations de [200 et 300 ppm] qui augmentent significativement le poids sec moyen des plantules, bien au-dessus de ce qui a été obtenu chez les plantules témoins et par rapport au traitement de [100 ppm] avec le même agent métallique. En effet, le poids sec moyen culmine à 0,51 mg pour la concentration de [200 ppm], puis à 0,62 mg pour la concentration de [300 ppm]. A noter que statistiquement, ces deux poids mesurés sont d'ordre équivalents, au vu de l'écart-type assez important enregistré (**Fig. 23**).

### IV.1.2.3. Teneur en eau des lots de plantules résultants des divers traitements

La teneur en eau moyenne par plantule témoin de *L. stoechas* L. est de 96,62%. Celle des traités par la concentration de [100 ppm] en Ni (93,52%) ou en Cd (94,94%), ne diffère pas de celle des témoins. Par contre, les traitements avec les autres concentrations font décliner cette teneur en eau, plus notablement avec le traitement au Ni qu'avec le traitement au Cd (**Fig. 24**).



**Figure 24**: Evolution des teneurs en eau moyennes par jeune plantule de *Lavandula stoechas* L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0.05$ .

En effet, avec les concentrations de [200, 300 ou 400 ppm] en Ni, la teneur en eau décline jusqu'à une valeur moyenne de 50%. Idem, pour les deux concentrations de [200 ou 300 ppm] en Cd dont le déclin atteint une valeur moyenne de près de 60%, d'une dizaine de % plus élevée que celle atteinte dans le cas du traitement au Ni pour les concentrations de [200et 300 ppm] (**Fig. 24**).

### IV.1.2.4. Comparatif entre les lots de plantules résultants des divers traitements

Les poids frais caractéristiques des plantules de *L. stoechas* L., issues des traitements appliqués aux graines en phase de germination par le Ni et le Cd, sont récapitulés dans le tableau suivant qui résume les principaux constats observés (**Tab. 5**):

**Tableau 5**: Poids frais moyens des plantules de *Lavandula stoechas* L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> / Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

	Poids frais moyens des plantules (mg)						
	Témoins	[100 ppm]	[200 ppm]	[300 ppm]	[400 ppm]		
NiSO <sub>4</sub>	7,205	5,064	1,388	1,607	1,512		
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>		5,523	1,648	1,496			
Rapport	1	0,916	0,842	1,074			

- ✓ Quelque soit le traitement utilisé, les valeurs des mesures des poids frais sont inférieures à ce qui a été observé chez les témoins. Cependant, la concentration de [100 ppm] en Ni ou bien en Cd, maintient un poids frais de niveau appréciable. Il est d'ailleurs légèrement prédominant avec le second traitement qu'avec le premier, en témoigne le rapport Ni/Cd de 0,91, plus avantageux au Cd;
- ✓ La concentration de [200 ppm] en Ni fait décliner le poids frais des plantules de 72% comparativement au traitement de [100 ppm] en Ni. C'est ce qui est également obtenu avec le Cd, où la concentration de [200 ppm] fait décliner le poids frais des plantules de 70% par comparaison au traitement de [100 ppm] en Cd;
- ✓ La concentration de [300 ppm] en Ni ou bien en Cd, ne modifie en rien les poids frais des plantules, auparavant signalés dans le cas des traitements à la concentration de [200 ppm]. Le rapport obtenu est de 1, indiquant que les effets des 2 traitements sont identiques sur le paramètre analysé et pour la concentration de [300 ppm] testée.

Après une dessiccation de 48 heures des plantules de *L. stoechas* L. à une température de 80°C, leur poids sec a été mesuré. Ce paramètre repris dans le tableau suivant, donne lieu aux remarques suivantes (**Tab. 6**) :

**Tableau 6**: Poids secs moyens des plantules de *Lavandula stoechas* L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> / Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

	Poids secs moyens des plantules (mg)					
	Témoins	[100 ppm]	[200 ppm]	[300 ppm]	[400 ppm]	
NiSO <sub>4</sub>	0,241	0,329	0,711	0,709	0,779	
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>		0,280	0,511	0,625		
Rapport	1	1,175	1,391	1,134		

- ✓ La concentration de [100 ppm] en Ni donne le même poids sec que la concentration de [100 ppm] en Cd. Le rapport étant proche de 1 et les poids secs mesurés sont équivalents à ce qui a été obtenu chez les témoins ;
- ✓ En augmentant la concentration du traitement avec le Ni ou bien le Cd, le poids sec augmente. Il atteint une valeur moyenne identique pour les traitements de [200, 300 ou même 400 ppm] en Ni. C'est le même cas pour le traitement avec le Cd, aux concentrations de [200 et 300 ppm];
- ✓ Le rapport Ni/Cd obtenu de la concentration de [200 ppm] dévie de la valeur 1, obtenue avec les autres concentrations testées. L'élévation du poids sec lorsqu'on traite avec le Ni à la concentration de [200 ppm] est de 53,7%. Elle n'est que de45,2% avec la concentration de [200 ppm] en Cd.

La teneur en eau des plantules est déduite des mesures des poids frais et des poids secs des plantules de *L. stoechas* L. issues des différents traitements appliqués au préalable aux graines lors de leur germination. Les résultats obtenus consignés dans le tableau suivant(**Tab. 7**), donnent lieu aux mêmes constatations relevées lors de l'analyse des poids secs précédente, à savoir :

- ✓ La concentration de [100 ppm] en Ni ou bien en Cd, donnent les mêmes teneurs en eau, en sus équivalentes à celle des témoins ;
- ✓ L'élévation de la concentration des 2 traitements à [200 ppm] en Ni ou bien en Cd, fait diminuer la teneur en eau des plantules, beaucoup plus pour le traitement au Ni, que pour le traitement au Cd, en témoigne la baisse du rapport Ni/Cd à 0,77;

✓ Avec la concentration de [300 ppm], le rapport Ni/Cd revient à la valeur 1, indiquant le rééquilibre de l'incidence des effets négatifs du Ni et du Cd sur la teneur en eau des plantules ;

**Tableau 7**: Teneurs en eau moyennes des plantules de *Lavandula stoechas* L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en  $NiSO_4 / Cd(NO_3)_2$ .

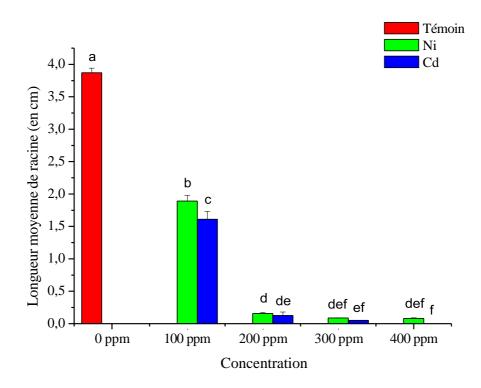
	Teneur en eau moyenne des plantules (%)						
	Témoins	[100 ppm]	[200 ppm]	[300 ppm]	[400 ppm]		
NiSO <sub>4</sub>	96,628	93,526	48,376	53,560	48,450		
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>		94,942	62,303	57,195			
Rapport	1	0,985	0,776	0,936			

# IV.1.3. Résultats relatifs aux mesures biométriques

### IV.1.3.1. Partie racinaire des lots de plantules résultants des divers traitements

Les plantules issues de la germination des graines traitées aux métaux lourds ont été mesurées et comparées aux plantules témoins. La longueur moyenne de la partie racinaire par plantule témoin est de 3,87 cm. Celle des plantules issues du traitement par une concentration de [100 ppm] au Ni est de 2 cm moindre que celle des plantules témoins. L'élévation de la concentration du Ni à [200 ppm] réduit encore plus la taille des racines, mesurées à 0,15 cm seulement. C'est aussi le cas avec les concentrations de [300 et 400 ppm] qui donnent des longueurs racinaires deux fois moindres (0,08 cm) que celle des traitées par la concentration de [100 ppm] en Ni (**Fig. 25**).

Après avoir au préalable traités les graines de *L. stoechas* L. avec différentes concentrations en Cd, la longueur racinaire moyenne par plantule mesurée pour la concentration appliquée de [100 ppm] est de 1,61 cm, soit de 2,2 cm inférieure par rapport à celle des témoins. Lorsqu'on porte la concentration du traitement au Cd à [200 ppm], la longueur racinaire mesurée est de seulement 0,12 cm par plantule. Elle est encore plus basse lorsqu'on porte la concentration du traitement au Cd à [300 ppm], donnant des longueurs de l'ordre de 0,05 cm moyennement et par plantule (**Fig. 25**).

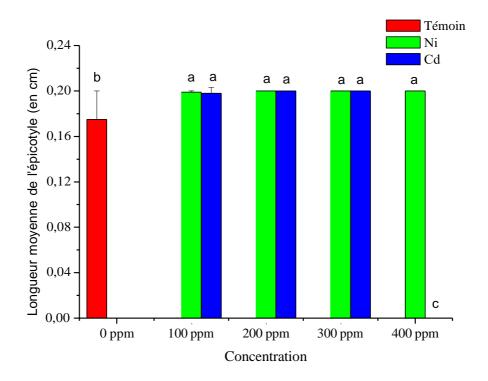


**Figure 25**: Evolution des longueurs moyennes des racines par jeune plantule de *Lavandula stoechas* L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0.05$ .

### IV.1.3.2. Partie aérienne des lots de plantules résultants des divers traitements

La longueur moyenne de la partie aérienne des plantules de *L. stoechas* L. issues d'un traitement préalable au Ni ne diffère pas de celle des témoins (0,17 cm). Elle demeure constante et ce pour les 4 concentrations testées [100, 200, 300 et 400 ppm]. En effet, elle se stabilise entre 0,19 et 0,20 cm (**Fig. 26**).

C'est aussi le cas pour les 3 concentrations testées au préalable sur les graines avec le Cd et qui ont permet l'obtention des plantules. Les longueurs racinaires qui ont été mesurées sur ces plantules sont de 0,19 ou de 0,20 cm (**Fig. 26**).



**Figure 26**: Evolution des longueurs moyennes des parties aériennes par jeune plantule de *Lavandula stoechas* L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0.05$ .

### IV.1.3.3. Comparatif entre les lots de plantules résultants des divers traitements

Lorsqu'on oppose les longueurs racinaires des 2 lots de plantules issues d'un traitement préalable des graines par différentes concentrations en Ni / Cd, on constate (**Tab. 8**) :

- ✓ En comparant par opposition concentration par concentration, entre le traitement au Ni et le traitement au Cd, la longueur de la partie racinaire des plantules issues du traitement au Ni sont plus longues que celle des plantules issues d'un traitement au Cd, et ce pour uniquement la concentration de [100 ppm]. Les autres concentrations de loin assez inférieures, mais donnent des longueurs racinaires statistiquement équivalentes entre-elles ;
- ✓ Le rapport Ni/Cd évolue en progressant légèrement, indiquant que le Cd affecte un peu plus la longueur racinaire des plantules que son vis-à-vis le Ni.

**Tableau 8** : Longueur de la partie racinaire des plantules de *Lavandula stoechas* L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> / Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

	Longueur de la partie racinaire des plantules (cm)						
	Témoins	Témoins         [100 ppm]         [200 ppm]         [300 ppm]         [400 ppm]					
NiSO <sub>4</sub>	3,870	1,891	0,157	0,088	0,081		
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>		1,609	0,127	0,050			
Rapport	1	1,175	1,236	1,760			

Les parties aériennes mesurées n'ont pas donné lieu à des différences significatives entre les 2 principaux lots de plantules issues de la germination des graines traitées au préalable parle Ni ou le Cd. Les données des longueurs aériennes pour l'ensemble des concentrations qui ont donné des plantules sont de l'ordre de 0,19 à 0,20 cm. Le rapport Ni/Cd ne varie pas de lavaleur 1 (**Tab. 9**) :

**Tableau 9**: Longueur de la partie aérienne des plantules de *Lavandula stoechas* L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> / Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

	Longueur de la partie aérienne des plantules (cm)						
	Témoins	Témoins         [100 ppm]         [200 ppm]         [300 ppm]         [400 ppm]					
NiSO <sub>4</sub>	0,175	0,199	0,200	0,200	0,200		
$Cd(NO_3)_2$		0,198	0,200	0,200			
Rapport	1	1,005	1	1			

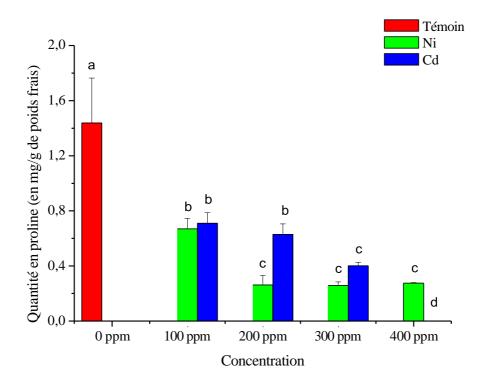
### IV.1.4. Résultats relatifs aux quantités de proline

### IV.1.4.1. Proline I des lots de plantules résultants des divers traitements

Par proline I, on signifie les quantités en proline des plantules rapportées en mg/g de matière végétale fraîche (MVF). Les plantules témoins issues des germinations des graines enprésence uniquement d'eau distillée renferment une quantité moyenne en proline de 1,43mg/g de MVF. Celle des plantules issues du traitement au Ni est deux fois moins importante (0,67 mg/g de MVF) que celle des témoins lorsque la concentration est de [100 ppm].

Elle décline encore plus lorsque on applique au préalable le Ni aux concentrations de [200, 300 et 400 ppm], pour tourner autour d'une valeur moyenne de 0,26 mg/g de MVF, identique aux 3 concentrations en Ni appliquées (**Fig. 27**).

Avec le Cd, la quantité en proline est également de deux fois moins importante que celle des plantules témoins (1,43 mg/g de MVF) lorsqu'il est appliqué à la concentration de [100 ppm] (0,71 mg/g de MVF). C'est presque aussi le cas pour une application de l'ordre de [200 ppm] (0,62 mg/g de MVF), où il n'y aucune différence significative entre les quantités en proline enregistrées respectivement pour les concentrations de [100 et 200 ppm]. En revanche, la concentration de [300 ppm] fait diminuer plus la quantité en proline, qui tourne autour d'une valeur moyenne de 0,40 mg/g de MVF (**Fig. 27**).

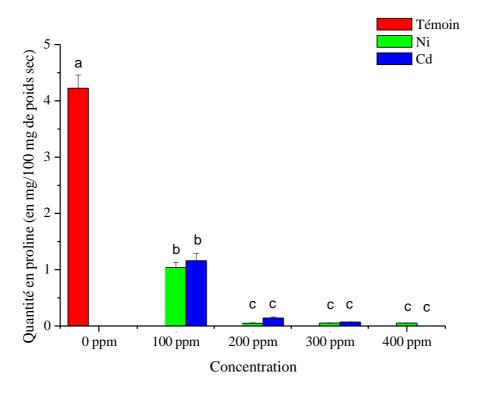


**Figure 27**: Evolution des quantités en proline (exprimées en mg/g de matière végétale fraîche) par jeune plantule de *Lavandula stoechas* L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0,05$ .

### IV.1.4.2. Proline II des lots de plantules résultants des divers traitements

Par proline II, on signifie cette fois-ci les quantités en proline des plantules rapportées en mg/100 mg de matière végétale sèche (MVS). Les plantules témoins comptent une quantité moyenne en proline de 4,22 mg/100 mg de MVS. Celle des plantules issues du traitement au Ni est quatre fois moins importante (1,03 mg/100 mg de MVS) que celle des témoins lorsque la concentration est de [100 ppm]. Elle décline encore plus fortement lorsque on applique au préalable le Ni aux concentrations de [200, 300 et 400 ppm], pour tourner autour d'une valeur moyenne de 0,05 mg/100 mg de MVS (**Fig. 28**)

C'est aussi le cas avec le Cd, où la quantité en proline diminue de 4,22 à 1,16 mg/100 mg de MVS pour une concentration de [100 ppm] ; de 1,16 à 0,14 mg/100 mg de MVS pour une concentration de [200 ppm] et de 0,14 à 0,07 mg/100 mg de MVS pour une concentration de [300 ppm]. Ces deux dernières valeurs sont néanmoins statistiquement identiques (**Fig. 28**).



**Figure 28**: Evolution des quantités en proline (exprimées en mg/100 mg de matière végétale sèche) par jeune plantule de *Lavandula stoechas* L. en fonction des différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> et en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> appliquées lors de la germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil  $\alpha = 0,05$ .

### IV.1.4.3. Comparatif entre les lots de plantules résultants des divers traitements

En déterminant les quantités en proline I des plantules de *Lavandula stoechas* L. provenant d'un traitement préalable des graines avec différentes concentrations en Ni/Cd, on constate (**Tab. 10**):

- ✓ Près de deux fois moins de proline caractérisent les traités avec une concentration de [100 ppm] en Ni ou bien en Cd par comparaison aux témoins. Le rapport Ni/Cd étant proche de 1 indiquant que la diminution de la proline est identique dans ce cas de figure pour le Ni et le Cd ;
- ✓ En portant la concentration à [200 ppm], le Ni induit une autre baisse de la quantité de la proline par rapport à la concentration précédente. Ce n'est pas le cas pour le Cd, qui maintient la quantité en proline aux mêmes niveaux que ce qui a été obtenu pour la concentration de [100 ppm]. Le rapport Ni/Cd diminue d'ailleurs de 0,94 à 0,41 ;
- ✓ La concentration de [300 ppm] provoque le contraire de ce qui a été observé pour la concentration de [200 ppm]. En effet, le Ni à [300 ppm] tend à maintenir la quantité en proline aux mêmes niveaux que ce qui a été obtenu à [200 ppm] ; le Cd en revanche fait baisser la quantité en proline, devenant de même niveau que celle obtenue avec la concentration de [300 ppm] en Ni. Le rapport Ni/Cd remonte de 0,41 à 0,64 dans ce cas de figure ;
- ✓ Avec la concentration de [400 ppm], le Ni ne fait pas varier la quantité en proline des plantules comparativement à ce qui a été enregistré avec les concentrations de [200 et 300 ppm]. Il ne peut être comparé au traitement au Cd, pour absence d'obtention de plantules dans ce cas.

**Tableau 10**: Quantité en proline I (exprimée en mg/g de matière végétale fraîche) des plantules de *Lavandula stoechas* L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> / Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

	Quantité en proline des plantules (mg/g de MVF)						
	Témoins         [100 ppm]         [200 ppm]         [300 ppm]         [400 ppm]						
NiSO <sub>4</sub>	1,438	0,670	0,262	0,258	0,275		
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>		0,710	0,629	0,401			
Rapport	1	0,943	0,416	0,643			

En reconsidérant les quantités en proline par rapport à la matière végétale sèche (**Tab. 11**), les mêmes observations reviennent par rapport à ce qui a été constaté dans le cas précédent, en exprimant les quantités en proline par rapport à la matière végétale fraîche (**Tab. 10**). Les rapports Ni/Cd pour les concentrations notamment de [100, 200 et 300 ppm] évoluent de la même manière et sont presque de même ordre lorsqu'on compare ces rapports concentration par concentration (**Tab. 10 & 11**).

**Tableau 11**: Quantité en proline II (exprimée en mg/100 mg de matière végétale sèche) des plantules de *Lavandula stoechas* L. issues des traitements appliqués aux graines par les différentes concentrations en NiSO<sub>4</sub> / Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

	Quantité en proline des plantules (mg/100 mg de MVS)					
	Témoins	[100 ppm]	[200 ppm]	[300 ppm]	[400 ppm]	
NiSO <sub>4</sub>	4,225	1,039	0,050	0,055	0,053	
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>		1,162	0,144	0,071		
Rapport	1	0,894	0,347	0,774		

### **IV.2. Discussion**

### IV.2.1. Germination des graines

Durant une vingtaine de jours, la progression de la germination des graines de *L. stoechas* L. a été suivie au laboratoire dans des conditions de germination fixes (obscurité, température de 20 °C). Les graines témoins qui n'ont pas été soumises au traitement métallique germent à hauteur de 89,2%, pour un temps moyen de germination de 6,8 jours et un temps de latence pris pour amorcer les premières germinations de deux jours.

Cette capacité germinative obtenue au final est bien meilleure que celle obtenue avec une espèce apparentée, *L. angustifolia* L., dont les graines ne germent au final qu'à hauteur de 33% (**Demirkaya et al. 2017**).

En mettant un oligoélément, comme le Ni, dans le milieu de germination des graines de L. stoechas L., apporté à différentes concentrations, on note dès lors que les temps de latence s'allongent pour uniquement la concentration la plus forte testée [400 ppm]. Aussi, une stimulation de la germination est notée entre le  $4^{\text{ème}}$  et le  $8^{\text{ème}}$  jour du suivi de la germination,

meilleure que celle des témoins, pour la concentration de [100 ppm] en Ni. Ceci dit, au final, le pourcentage de germination obtenu pour la concentration de [100 ppm] en Ni ne change pas de ce qui a été obtenu pour les témoins. Sinon, que le temps moyen de germination mis par les graines traitées à la concentration de [100 ppm] est bien en dessous de celui mis parles graines témoins (5,9 vs 6,5 jours).

La germination des graines traitées avec les concentrations de [200 ou 300 ppm] en Ni évoluent de la même façon que les témoins, du moins jusqu'au 12ème jour, avant de marquer le pas et de donner au final un pourcentage de germination réduit de 15% par rapport à celui des témoins (75,4% *vs* 89,2%), pour des temps moyens de germination un peu plus longs (7 jours environ). La concentration de [400 ppm] en Ni est plus préjudiciable à la germination des graines, nécessitant un temps de latence plus long, un temps moyen de germination de plus de 8 jours et ne donnant au final que 65,3% du total des graines qui germent.

Le Cd et pour seulement l'unique concentration de [100 ppm], ne rehausse la germination des graines de *L. stoechas* L. que pendant le laps de temps qui dure du 4<sup>ème</sup> au 8<sup>ème</sup> jour. Au delà, il marque le pas devant les graines témoins (78,6% *vs* 89,2%). Ceci est rendu par les temps moyens de germination qui se révèlent plus courts chez les traités par la concentration de [100 ppm] que chez les graines témoins (4,37 *vs* 6,51 jours). Les autres concentrations utilisées sont très préjudiciables aux graines, réduisant le pouvoir germinatif des graines jusqu'à n'avoir aucune germination avec la concentration de [400 ppm].

Dans un travail qui a été consacré aux effets du NiSO<sub>4</sub> sur la germination des graines de *Parkinsonia aculeata* L, il a été obtenu une diminution de la capacité germinative, plus marquée au fur et à mesure que l'on augmente la concentration du Ni dans le milieu de germination. En effet et comparativement aux témoins (80%), les pourcentages finaux de germination obtenus sont de 70,4% pour une concentration de [25 ppm] ; de 53,6% pour [50 ppm] ; de 41,6% pour [150 ppm] ; de 32,8% pour [300 ppm] ; de 26,4% pour [450 ppm] et de21,6% pour [600 ppm] (Bekhouche & Benberkat, 2018).

C'est ce qui s'exprime avec les graines d'une autre espèce, *Macrotyloma uniflorum*, traitées au Ni. La capacité de germination au final des graines témoins qui est de 99%, décline à 95% avec le traitement de [20 ppm]; à 64% avec le traitement de [40 ppm]; à 55% avec le traitement de [60 ppm]; à 35% avec le traitement de [80 ppm] et à 30% avec le traitement de [100 ppm] (**Arzoo et al. 2014**).

Dans un autre travail qui a été réservé à l'espèce *Parkinsonia aculeata* L. et durant lequel le Cd a été utilisé dans le milieu de germination, il a été observé également une diminution des pourcentages finaux de germination qui s'accentuent certes avec l'élévation de la concentration de cet agent métallique, mais un peu moins par rapport aux effets induits par le Ni sur les graines de cette même espèce, tel qu'il a été rapporté précédemment.

En effet, les pourcentages finaux de germination obtenus avec le Cd sont de 60,0% pour une concentration de [25 ppm]; de 53,3% pour [50 ppm]; de 47,8% pour [150 ppm]; de 44,4% pour [300 ppm]; de 38,9% pour [450 ppm] et de 8,9% pour [600 ppm] (**Amara & Sahki, 2017**). Il y a lieu de rappeler, que l'espèce *Parkinsonia aculeata* L. est une espèce dont les graines présentent un tégument dur, au contraire des graines de *L. stoechas* L.

Au plan de la germination avec le Cd, *L. stoechas* L. se rapproche plus des graines d'une espèce comme *Lactuca sativa*, dont les effets induits par le Cd provoquent une inhibition de la germination tour à tour de 64 ; 82,5 et 92,5%, et ce respectivement pour les concentrations de [25 ; 35 et 50 µM/L ] (Bautista et al. 2013).

Généralement, lors d'un traitement des graines avec des métaux lourds, la tendance est vers la baisse de la capacité germinative obtenue au final. Ceci s'explique par le fait que ces métaux peuvent affecter la germination de la graine en limitant soit l'approvisionnement en eau (stress osmotique), soit l'induction de toxicités spécifiques d'ions (stress ionique) (**Khan**, 2002).

Si le Ni est considéré comme un oligo-élément, qui peut caractériser positivement une plante au cours de son développement (Brown et al. 1987; Asher, 1991; Welch and Shuman, 1995). Il peut aussi avoir des effets bénéfiques sur la germination lorsqu'il est utilisé à de très faibles concentrations (Rout et al. 2000; Peralta et al. 2001). Dans cet ordre, des applications exogènes de Ni apportées à faibles concentrations, améliorent la germination graines du tournesol. Des concentrations plus élevées entravent en revanche cette germination, au motif que l'absorption d'autres nutriments comme le potassium ou encore le magnésium, est inhibée par la présence du Ni (Madhava Rao and Sresty, 2000).

La germination des graines de plusieurs espèces est cependant plus sensible aux effets imposés par le Cd, notamment lorsqu'il est utilisé aux fortes concentrations. En effet, le Cd impacte de nombreuses fonctions physiologiques vitales des plantes et plus particulièrement les capacités germinatives de leurs graines (**Kranner and Colville, 2011**).

Pour tout processus physiologique ou métabolique, les seuils critiques de phytotoxicité définis en termes d'accumulation tissulaire, sont les plus déterminants de la sensibilité ou non aux métaux lourds (Woolhouse, 1983; Fernandes and Henriques, 1991). Ainsi, la germination ne doit pas être considérée comme processus tolérant ou résistant aux métaux lourds; la vulnérabilité de la germination devrait être associée aux niveaux d'accumulation réelle des métaux, qui interfèrent avec les voies métaboliques au niveau des tissus de la graine (Mihoub et al. 2005; Fatarna et al. 2017).

Aussi, les effets inhibiteurs sur la germination induits par les plus fortes concentrations pourraient être, en grande partie, expliqués par une action inhibitrice des métaux sur les enzymes de l'hydrolyse des réserves des graines (Chugh and Sawhney, 1996; Bansal et al. 2001) et/ou amputés à des perturbations dans le métabolisme respiratoire (Bansal and Sharma, 2000). Seulement, l'inhibition semble dépendre du métal, de sa concentration, de la durée d'exposition des graines, de l'espèce végétale, voire même de la variété et de la graine, notamment la nature des ses téguments (Carlson et al. 1991; Munzuroglu & Geckil, 2002).

Pour **Ernst** (1998), la germination qui est un processus certes vulnérable au stress métallique, serait un mécanisme des plus résistants parmi les autres processus de croissance et de développement des plantes. Cet auteur rapporte les téguments des graines confèrent une barrière contre une forte accumulation des métaux.

### IV.2.2. Statut de l'eau des plantules

En considérant la teneur en eau des plantules de *L. stoechas* L., issues des germinations traitées au préalable par différentes concentrations en Ni ou en Cd, on remarque que les résultats obtenus reflètent aussi bien la capacité de germination obtenue au final et l'état hydrique des plantules qui en sont issues. En effet, la teneur en eau des plantules issues du traitement avec la concentration de [100 ppm] en Ni ou en Cd, est de même niveau que celle des témoins. Toutes les autres concentrations font drastiquement baisser la teneur en eau.

Lors du déroulement de la germination, il a été rapporté qu'un effet inhibiteur des fortes concentrations en Zn présentes dans le milieu de germination, ne s'installe qu'après la phase d'imbibition des graines, une fois qu'il est en contact avec les cellules de l'embryon et des tissus qui l'entourent. En revanche, d'autres métaux comme le Cd, limite significativement l'imbibition même des graines de *Dorycnium pentphyllum*, tout en réduisant par la suite leur taux de germination et leur croissance radiculaire (**Lefèvre et al. 2009**).

La teneur en eau est un bon indicateur de l'état de turgescence relatif d'un tissu ou d'un organe et préfigure de l'état de tolérance ou non aux conditions environnantes. Cette tolérance se réalise grâce à la capacité d'une plante à pouvoir mettre en place des mécanismesqui lui assurent une absorption de l'eau et/ou la sauvegarde d'un certain niveau d'hydratation, indispensable à la continuité du métabolisme cellulaire (**Turner**, 1986).

Ce sont les racines responsables de l'absorption de l'eau qui sont les premières au contact avec les ions métalliques. En excès, ces ions peuvent affecter l'absorption de l'eau, qui se traduit par une diminution de la teneur en eau. Il a été rapporté qu'un déficit hydrique au niveau racinaire survient en conséquence d'une exposition au Cd, Ni et Zn (Rucińska-Sobkowiak, 2016).

Si un milieu est riche en sels de métaux lourds, le potentiel osmotique de la solution de ce milieu pourrait être inférieure au potentiel de la sève cellulaire dans les racines. Dans ces circonstances, la solution du milieu limiterait considérablement le taux d'absorption d'eau par les plantes et mènerait vers un stress osmotique. Il est communément admis qu'un stress osmotique se produit dès lors que la concentration d'un sel dépasse la valeur seuil de 10<sup>-3</sup> M (**Levitt, 1972**).

Les ions des métaux lourds atteignent rarement des concentrations de solution suffisantes pour provoquer des perturbations osmotiques chez les plantes sans symptômes antérieurs de toxicité létale. Il est plus probable que l'absorption d'eau par les plantes soit régulée indirectement par des changements de facteurs endogènes, tel que l'anatomie et/ou la morphologie des racines (Rucińska-Sobkowiak, 2016). Chez Salix caprea, une diminution marquée de la surface racinaire totale a été observée après une exposition au Zn, au Cd ou à une combinaison de ces deux métaux (Vaculîk et al. 2012).

### IV.2.3. Mesures biométriques

Les plantules de *L. stoechas* L. issues de la germination des graines traitées par une concentration de [100 ppm] en Ni ou en Cd, expriment une longueur racinaire respectivement de 2 et 2,2 cm moindre que celle des plantules témoins. L'élévation des concentrations des deux traitements réduit encore plus ces longueurs. En contrepartie, les mesures réalisées sur les parties aériennes n'ont pas donné lieu à des différences significatives entre les deux lots de plantules issues de la germination des graines traitées au préalable au Ni ou au Cd. Cette partie ne s'est pas suffisamment développée au même titre d'ailleurs que les témoins.

Les anomalies les plus souvent exprimées par les plantes stressées par les métaux, résident au niveau de l'allongement de la racine primaire, une croissance secondaire altérée, un dépérissement accru des racines et une surface réduite des poils absorbants. C'est ce qui a été décrit pour plusieurs métaux dont le Ni (Sreekanth et al. 2013) et le Cd (Lux et al. 2011; Gallego et al. 2012). Les modifications induites par ces métaux entraînent un contact inapproprié entre les racines et leur milieu (sol), réduisant ainsi leur capacité à exploiter l'eau depuis ce milieu (Rucińska-Sobkowiak, 2016).

Chez *Atriplex halimus* L., dont les graines ont été traitées au Cd, Zn et Pb, leurs plantules sont impactées par rapport à la longueur des racines. En effet, les métaux utilisés réduisent significativement la croissance, laquelle est d'autant plus prononcée que les concentrations sont élevées. Les réductions des longueurs enregistrées à la fin de l'expérimentation, par rapport au témoin, sont de l'ordre de 67% suite à l'ajout du Zn et du Pb, et de 72% aprèsajout du Cd (**Fatarna et al. 2017**).

Kranner & Colville (2011) confirment l'inhibition de la croissance radiculaire chez plus de 15 espèces végétales en présence de concentrations croissantes de métaux (Cr, Cd, Cu, Zn, Pb, Ni et Hg). L'analyse de l'action spécifique des métaux sur la cinétique de croissance radiculaire montre que, pendant la phase d'élongation, le Cd inhibe significativement la croissance. Cette inhibition est d'autant plus importante que les concentrations en Cd sont en augmentation. Ce résultat corrobore ceux obtenus des effets du Cu, Pb, Zn et Hg, quientraînent une inhibition de la croissance des radicules chez *Arabidopsis thaliana* L., mais n'inhibent pas la germination (Li et al. 2005). En revanche, le Cd inhibe la germination et la croissance radiculaire à des concentrations similaires (Fatarna et al. 2017).

Ainsi, la croissance serait plus sensible à l'action toxique des métaux et est souvent complètement inhibée par de faibles concentrations, qui ont peu d'effets sur la germination (Mahmood et al. 2005 ; Aydinalp and Marinova, 2009 ; Kranner and Colville, 2011).

### IV.2.4. Quantités en proline

La capacité d'absorption de l'eau par un système racinaire intact, assure l'état de turgescence d'un tissu ou d'un organe et permet de supporter des conditions adverses d'un milieu. Cette résistance peut être réalisée grâce à la capacité d'une plante à mettre en place un mécanisme qui lui assure d'abord une absorption de l'eau, puis la sauvegarde d'un certain niveau d'hydratation, seul garant de la continuité du métabolisme cellulaire (**Turner**, 1986).

A ce sujet, lorsqu'on détermine les quantités en proline des plantules de *L. stoechas* L., rapportées au poids frais, on trouve deux fois moins de proline que les témoins, et ce chez les plantules issues d'un traitement préalable des graines avec une concentration de [100 ppm] en Ni, qui s'étend à la concentration de [200 ppm] en Cd. Toutes les autres concentrations testées font baisser les niveaux de la proline de façon encore plus drastique.

La proline est un acide aminé que les plantes synthétisent *de novo* en réponse à divers stress, dont celui induit par la toxicité des métaux lourds (Verslues et al. 2006; Bose and Yadav, 2007; Sharma and Dietz, 2009; Siddique and Dubey, 2017). La capacité d'accumulation de la proline est variable, selon le type de stress, les niveaux d'applicationdes stress et d'une espèce à une autre (Verbruggen and Hermans, 2008; Hayat et al.2012).

La phytotoxicité induite aux métaux lourds a des conséquences sur par exemple l'activité de la superoxyde dismutase avec lésions sur les membranes cellulaires. La proline dans ce cas, pourrait assurer un rôle protecteur (Kavi Kishor et al. 1995 ; Siddique and Dubey, 2017).

Lorsque la toxicité aux métaux lourds est amplifiée et s'installe dans la durée, un stress oxydatif s'installe et provoque des dysfonctionnements des systèmes membranaires. En de telles situations, ce sont les seules plantes capables d'en accumuler de la proline, qui peuvent prétendument éviter ces problèmes de peroxydation des lipides membranaires et de fuites d'ions depuis les cellules. C'est ce qui a été constaté lorsqu'on rajoute de la proline à des tissus en situation de stress (Mehta and Gaur, 1999; Cuin and Shabala, 2007; Hasanuzzaman et al. 2014; Siddique et al. 2018).



# V. Conclusion

L'environnement immédiat est pourvu d'éléments traces métalliques générés par l'activité anthropogénique et sont tous polluants, en fonction de leur concentration et de leur spéciation. Leurs effets sont diversement appréciés, certains sont essentiels à très faible concentration pour le métabolisme en général et la production végétale en particulier, d'autres y sont toxiques.

Parmi ces métaux, deux éléments chimiques : le Ni sous forme de sulfate de nickel hexahydraté (NiSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O) ; et le Cd sous forme de nitrate de cadmium (Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.8/3H<sub>2</sub>O), ont été sélectionnés et testés avec différentes concentrations sur des graines de *Lavandula stoechas* L., une plante aromatique d'un très grand intérêt.

L'aspect germinatif des graines de *L. stoechas* L. sous ces deux contraintes métalliques a été suivi pendant 20 jours. Les résultats obtenus de l'évolution de la germination de ces graines au cours de ce temps ont montrés des courbes typiques sigmoïdales, pouvant être rapides ou plus lentes en fonction des agents et des concentrations des éléments traitants utilisés.

La concentration de [100 ppm] en Ni ou en Cd semble stimuler plus que les témoins, la germination des graines de *L. stoechas* L., mais uniquement aux 1<sup>ers</sup> jours, juste après le temps de latence de 2 jours nécessaire pour amorcer la germination. Le temps moyen de germination obtenu dans ce cas est raccourci par rapport à celui des témoins. Ce n'est pas pour autant que la capacité germinative des graines en soit au final améliorée, plus que celle des témoins. En effet, si le Ni tourne avec un pourcentage de germination final autour du même niveau que celui des témoins, le Cd fait en revanche baisser ce niveau de près de 12%.

Toutes les autres concentrations testées font décliner le pouvoir germinatif des graines et en sont préjudiciables aux fortes concentrations, particulièrement pour le Cd qui se révèle plus entravant de la germination que le Ni.

Juste après le suivi de cette phase germinative, les jeunes plantules de *L. stoechas* L., qui en sont issues des différents traitements métalliques imposés aux graines ont été récupérées et analysées par rapport au statut de l'eau (détermination des poids frais, poids secs et teneurs en eau), aux mesures biométriques (mesure des longueurs des parties racinaires et aériennes), et à la quantité en proline que pouvait accumuler ces plantules.

Les plantules de *L. stoechas* L. obtenues des traitements de [100 ppm] en Ni ou en Cd, comptent une teneur en eau de même niveau que celle des témoins. Toutes les autres concentrations font baisser cette teneur, assez drastiquement lorsqu'il s'agit des plus fortes concentrations. Ce paramètre de statut de l'eau abonde finalement dans le même sens, que ce qui a été déduit lors de l'analyse de la capacité germinative des graines.

Les teneurs en eau obtenues reflètent également l'état des racines, organes de l'absorption de l'eau, en contact direct avec le milieu contenant les éléments métalliques. A ce propos, rien que l'analyse des longueurs racinaires des plantules issues des deux traitements infligés au préalable aux graines, témoignent de cet état de fait. En effet, les longueurs racinaires enregistrées rien que par le traitement de [100 ppm] en Ni ou en Cd, sont de 2 cm moins longues que les racines des témoins. La réduction s'accentue avec l'élévation des concentrations des deux éléments.

Ces observations sont renforcées par les quantités en proline trouvées au sein des plantules. Ainsi, on a trouvé deux fois moins de proline chez les plantules issues d'untraitement de [100 ppm] en Ni ou en Cd, que chez les plantules témoins.

Ainsi utilisés, une concentration de seulement [100 ppm] en Ni, si elle permet la germination des graines de *L. stoechas* L., sans pour autant l'améliorer ; la croissance des plantules qui en sont issues est entravée. Le cadmium à la même concentration entrave la capacité germinative obtenue au final, ainsi que la croissance des plantules qui en sont issues.

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Adriano D.C.** (2001). Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, bioavailability, and risks of Metals, *second ed. Springer-Verlag, New-York*. 867p. <a href="https://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-21510-5">https://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-21510-5</a>
- **Amara S. & Sahki S.** (2017). Influence de quelques sels de métaux lourds sur le pouvoir germinatif des graines de *Parkinsonia aculeata* L. *Mémoire de fin de cycle, Masteren Biodiversité et Sécurité Alimentaire, Université A. Mira de Bejaia.* 42 pp.
- **Anzala F.** (2006). Contrôle de la vitesse de germination chez le maïs (Zea mays) : étude de la voie de biosynthèse des acides aminés issus de l'aspartate et recherche de QTLs. *Thèse de Doctorat en Biologie Cellulaire et Moléculaire Végétale : Ecole Doctorale d'Angers, France.* 149 p. http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00181021
- **Arzoo A., Nayak S.K., Mohapatra A., Satapathy K.B.** (2014). Impact of nickel on germination, seedling growth and biochemical changes of *Macrotyloma uniflorum* (Lam) Verdc. *International Journal of Biosciences* 5(9), 321-331. ISSN: 2220-6655
- **Asher C.J.** (1991). Beneficial elements, functional nutrients, and possible new essential elements. *In Micronutrients in Agriculture* Second Edition. Published by: Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA 1991. 703-719. doi:10.2136/sssabookser4.2ed.c18
- **Aydinalp C. & Marinova S.** (2009). The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 15, 347-350.
- Bacchetta G., Fenu G., Mattana E., Piotto E., Virevaire M. -eds- (2006). Manuel pour la récolte, l'étude, la conservation et la gestion ex situ du matériel végétal. *Edition en Français, corrigée et amendée à partir de l'original en Italien, APAT, Agenzia per laProtezione dello Ambiente, Roma*, 218 pp.
- **Bansal P. & Sharma P.** (2000). Effect of Pb<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> on respiration and mitochondrial electron transport chain in germinating pea seeds (*Pisum sativum L.*). *Indian J. Environ. Ecoplan.* 3, 249-254.
- **Bansal P., Sharma P., Dhindsa K.** (2001). Impact of Pb<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> on activities of hydrolytic enzymes in germinating pea seeds. *Ann. Agri-Bio. Res.* 6, 113-122.

- **Barbier E.** (1963). Les lavandes et l'apiculture dans le sud-est de la France. *Ann. Abeille* 6(2), 85-159. doi.org/10.1051/apido:19630201
- **Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D.** (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39(1), 205-207. https://dx.doi.org/10.1007/BF00018060
- **Bautista O.V., Fischer G., Cardenas-Hernandez J.F.** (2013). Cadmium and chromium effects on seed germination and root elongation in lettuce, spinach and Swiss chard. *Agronomia Colombiana* 31(1), 48-57.
- **Bekhouche I. & Benberkat N.** (2018). Essais de germination sous une contrainte imposée par l'utilisation d'un métal trace. *Mémoire de fin de cycle, Master en Biodiversité et Sécurité Alimentaire, Université A. Mira de Bejaia.* 38 pp.
- **Benabdelkader T.** (2012). Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. *Thèse de Doctorat en cotutelle : Université Jean Monnet Saint-Etienne (France) ; Ecole normale supérieure de Kouba(Algerie)*. 282 p. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00952695
- **Besombes C.** (2008). Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo-mécanique d'herbes aromatiques : applications généralisées. *Thèse de Doctorat en Génie des Procédés industriels, Université de La Rochelle, France*. 290 pp. http://tel.archivesouvertes.fr/tel-00399135
- **Bewley J. & Black M.** (1994). Seeds: Physiology of development and germination. *Plenum.* New York, USA. 367pp.
- **Bewley J.** (1997). Seed germination and dormancy. *The Plant Cell* 9, 1055-1066. doi:10.1105/tpc.9.7.1055
- **Bose B. Yadav R.S.** (2007). PEG induced moisture stress: Screening for drought tolerance in rice. *Indian Journal of Plant Physiology* 12(1), 88-90.
- **Boukhatem M., Ferhat M., Benassel N. & Kameli A.** (2020). Lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.): une plante à parfum aux multiples vertus. *Phytothérapie* 18, 30-44. doi.org/10.3166/phyto-20190163

- **Brown P.H., Welch R.M., Cary E.E.** (1987). Nickel: a micronutrient essential for higher plants. *Plant Physiology* 85(3), 801-803. doi:10.1104/pp.85.3.801
- Carlson C.L., Adriano D.C., Sajwan K.S., Abels S.L., Thoma D.P., Driver J.T. (1991). Effects of selected trace metals on germinating seeds of six plant species. *Water, Air and Soil Pollution (Netherlands)* 59(3), 231-240. <u>ISSN</u>: 0049-6979
- Chaussat R. & Le Deunff Y. (1975). La germination des semences. Formation permanente en écologie et biologie, Collection d'Institut National Agronomique, Editeur Gauthier-Villars. 232 pp. ISBN 9782040044954
- **Cheng S.** (2003). Effects of heavy metals on plants and resistance mechanisms. *Environmental Science and Pollution Research International, Heidelberg* 10(4), 256-264. doi:10.1065/espr2002.11.141.2
- **Chu C.J. & Kemper K.J.** (2001). Lavender (*Lavandula* spp.). The Longwood Herbal Task Force and The Center for Holistic Pediatric Education and Research, 32 pp. <a href="https://www.mcp.edu/herbal/">https://www.mcp.edu/herbal/</a>
- **Chugh L.K. & Sawhney S.K.** (1996). Effect of cadmium on germination, amylases and rate of respiration of germinating pea seeds. *Environmental Pollution* 92(1), 1-5. https://dx.doi.org/10.1016/0269-7491(95)00093-3
- **Côme D.** (1975). Acquisition de l'aptitude à germer. In R. Chaussat et Y. Le Deunff (eds), La germination des semences, Gauthier-Villars éditeur, Bordas, Paris, 60-70.
- **Cuin T.A. & Shabala S.** (2007). Compatible solutes reduce ROS-induced potassium efflux in Arabidopsis roots. *Plant, Cell & Environment* 30(7), 875-885. <a href="https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01674.x">https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01674.x</a>
- **Dabouineau L., Lamy Y., Collas P.** (2005). Phytoremédiation et phytorestauration ou l'utilisation des plantes pour la dépollution et l'épuration des eaux usées. *Le râle d'eau* 124, 8-15. <a href="http://docplayer.fr/70966689-Phytoremediation-et-phytorestauration-">http://docplayer.fr/70966689-Phytoremediation-et-phytorestauration-</a>
- **Delauney A.J. & Verma D.P.S.** (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The plant journal* 4(2), 215-223. https://dx.doi.org/10.1046/j.1365-313X.1993.04020215.x

**Demirkaya M., Aydin B., Dalda Sekerci A. & Gulsen O.** (2017). Effects of osmotic conditioning treatments of lavender (*Lavandula angustifolia*) seeds on mean germination time and germination rate. *International Journal of Secondary Metabolite* 4, 418-422. doi:10.21448/ijsm.375118

**Doran J.C. & Gunn B.V.** (1987). Treatments to promote seed germination in Australian acacias. In the series analytic: Australian acacias in developing countries, editedby J.W. Turnbull. *Proceedings of an International workshop held August 4-7, 1986, at the Forestry Training Centre, Gympie, Qld., Australia, 57-63.* 

**Ernst W.H.O.** (1998). Effects of heavy metals in plants at the cellular and organismic level. *In* Schüürmann G. & Markert B. (eds.) Ecotoxicology. *Wiley, New York, Spektrum, Heidelberg*, 587-620.

**Evenari M.** (1957). The physiological action and biological importance of germination inhibitors. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 11, 21-44.

**Fabiano C.C., Tezotto T., Favarin J.L., Polacco J.C., Mazzafera P.** (2015). Essentiality of nickel in plants: a role in plant stresses. *Frontiers in Plant Science* 6:754, 6 p. <a href="https://dx.doi.org/10.3389/fpls.2015.00754">https://dx.doi.org/10.3389/fpls.2015.00754</a>

**Fabrégat S.** (2010). Les métaux lourds : une pollution de long terme. *L'air à bout de souffle*. <a href="http://www.actu-environnement.com/ae/dossiers/air/metaux-lourds.php4">http://www.actu-environnement.com/ae/dossiers/air/metaux-lourds.php4</a>

Fatarna L., Boutekrabt A., Arabi Y., Adda A. (2017). Impact du cadmium, du zinc et du plomb sur la germination des grains d'*Atriplex halimus* L. (*Amaranthaceae*). *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)* 72(1), 61-72. <a href="https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03532573">https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03532573</a>

**Fernandes J.C. & Henriques F.S.** (1991). Biochemical, physiological and structural effects of excess copper in plants. *The Botanical Review* 57, 246-273. <a href="https://dx.doi.org/10.1007/BF02858564">https://dx.doi.org/10.1007/BF02858564</a>

**Finch-Savage W. & Leubner-Metzger G.** (2006). Seed dormancy and the control of germination. *The New Phytologist* 171, 501-523. https://dx.doi:10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x **Finkelstein R., Reeves W., Ariizumi T. & Steber C.** (2008). Molecular aspects of seed dormancy. *Annual Review of Plant Biology* 59, 387-415. https://dx.doi:10.1079/SSR2003150

**Fourest E.** (1993). Etude des mécanismes de biosorption des métaux lourds par des biomasses fongiques indutrielles en vue d'un procédé d'épuration des effluents aqueux contaminés. *Thèse de Doctorat en Biologie, Grenoble 1.* www.theses.fr/1993GRE10142

Gallego S.M., Pena L.B., Barcia R.A., Azpilicueta C.E., Iannone M.F., Rosales E.P., Zawoznik M.S., Groppa M.D., Benavides M.P. (2012). Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany* 83, 33-46. <a href="https://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.04.006">https://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.04.006</a>

**Giray E.S., Kirici S., Kaya D.A., Türk M., Sönmez O., Inan M.** (2008). Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta*. 74(4): 930-935. <a href="https://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2007.07.040">https://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2007.07.040</a>

Godt J., Scheidig F., Grosse-Siestrup C., Esche V., Brandenburg P., Reich A., Groneberg D.A. (2006). The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology* 1(22): 6 p. https://dx.doi.org/10.1186/1745-6673-1-22

Gören A., Topçu G., Bilsel M., Aydogmus Z., Pezzuto J.M. (2002). The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. stoechas. *Zeitschrift fur Naturforschung C Journal of Biosciences*, 57(9-10): 797-800. <a href="https://dx.doi.org/10.11515/znc-2002-9-1007">https://dx.doi.org/10.11515/znc-2002-9-1007</a>

**Hasanuzzaman M., Nahar K., Gill S.S., Fujita M.** (2014). Drought stress responses in plants, oxidative stress, and antioxidant defense. *In* Tuteja N. & S.S. Gill, Climate change and plant abiotic stress tolerance. *Ist Edition, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGaA*. 209-249.

Hayat S., Hayat Q., Alyemeni M.N., Wani A.S., Pichtel J., Ahmad A. (2012). Role of proline under changing environments: a review. *Plant Signaling & Behavior* 7(11), 1456-1466. <a href="https://dx.doi.org/10.4161/psb.21949">https://dx.doi.org/10.4161/psb.21949</a>

- **Heller R., Esnault R. & Lance C.** (1990). Abrégé de physiologie végétale, Tome 2 Développement. Elsevier Masson, Paris, 328 pp. <u>ISBN</u> : 2225847789
- **Heller R., Esnault R. & Lance C.** (2004). Physiologie végétale. 2. Développement. *Editeur Dunod, Collection Cours*, 366 pp. <u>ISBN</u> : 9782100487110
- Hilhorst H., Finch-Savage W., Buitink J., Bolingue W. & Leubner-Metzger G. (2010). Dormancy in plant seeds. In E. Lubzens, J. Cerda & M. Clark (Eds.), *Dormancy and Resistance in harsh environments* (Vol. 21, pp.43-67). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <a href="https://dx.doi:10.1007/978-3-642-12422-8">https://dx.doi:10.1007/978-3-642-12422-8</a>
- **Hong Z., Lakkineni K., Zhang Z., Verma D.P.** (2000). Removal of feedback inhibition of  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiology* 122(4), 1129-1136. https://dx.doi.org/10.1104/pp.122.4.1129
- **Hopkins G.H.** (2003). Physiologie végétale. De Boeck Université, Bruxelles, 2<sup>ème</sup> édition, 514 pp. ISBN-13: 9782744500893
- **Hussein M.H.** (2000). A review of beekeeping in Arab countries. *Bee World*, 81(2): 56-71. https://dx.doi.org/10.1080/0005772X.2000.11099473
- **Jullien J.** (2016). Critères de détermination des plantes hôtes potentielles de *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* en France. In Plantes hôtes potentielles de *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* en France, guide de reconnaissance. *Surveillance biologique du territoire (SBT) dans le domaine végétal, ANSES, ONPV, Minstère de l'Agriculture de l'Agro- Alimentaire et de la Forêt* 1ère Edition, 61 pp. <a href="http://plateforme-esv.fr/sites/default/files/2020-05/08">http://plateforme-esv.fr/sites/default/files/2020-05/08</a>
- **Kabata-Pendias A. & Pendias H.** (2001). Trace elements in soils and plants. *Third Edition, CRC Press LLC*. 403 p. ISBN 0-8493-1575-1
- Kavi Kishor P.B., Hong Z., Miao G.H., Hu C.A., Verma D.P.S. (1995). Overexpression of  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiology* 108, 1387-1394. <u>ISSN</u>: 0032-0889

- **Khan M.A., Gul B., Weber D.J.** (2002). Seed germination in the great basin halophyte *Salsola iberica. Canadian Journal of Botany* 80(6), 650-655. <a href="https://dx.doi.org/10.1139/B02-046">https://dx.doi.org/10.1139/B02-046</a>
- **Kranner I. & Colville L.** (2011). Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environmental and Experimental Botany* 72(1), 93-105. <a href="https://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.05.005">https://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.05.005</a>
- **Lefèvre I., Marchal G., Corréal E., Zanuzzi A., Lutts S.** (2009). Variation in response to heavy metals during vegetative growth in *Dorycnium pentaphyllum* Scop. *Plant Growth Regulation* 59, 1-11. <a href="https://dx.doi.org/10.1007/s10725-009-9382-z">https://dx.doi.org/10.1007/s10725-009-9382-z</a>
- **Levitt J.** (1972). Physiological adaptations: responses of plants to environmental stresses. *Academic Press, New York* 177(4051). 698pp. https://dx.doi.org/10.1126/science.177.4051.786.a
- **Li W., Khan M.A., Yamaguchi S., Kamiya Y.** (2005). Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regulation* 46, 45-50. https://dx.doi.org/10.1007/s10725-005-6324-2
- **Loué A.** (1993). Oligo-éléments en agriculture. 2<sup>nd</sup> Edition, SCPA (Société Commerciale des Potasses et de l'Azote), Nathan, Paris, 577 pp. ISBN 978-2091768281
- Lux A., Martinka M., Vaculík M., White P.J. (2011). Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *Journal of Experimental Botany* 62(1), 21-37. https://dx.doi.org/10.1093/jxb/erq281
- **Madhava Rao K.V. & Sresty T.V.** (2000). Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Science* 157(1), 113-128. <a href="https://dx.doi.org/10.1016/s0168-9452(00)00273-9">https://dx.doi.org/10.1016/s0168-9452(00)00273-9</a>
- **Mahmood S., Hussain A., Saeed Z., Athar M.** (2005). Germination and seedling growth of corn (*Zea mays* L.) under varying levels of copper and zinc. *International Journal of Environmental Science & Technology* 2, 269-274. https://dx.doi.org/10.1007/BF03325886
- **Matilla A.J. & Matilla-Vásquez M.A.** (2008). Involvement of ethylene in seed physiology. *Plant Science*, 175(1-2): 87-97. https://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.01.014

**Mazliak P.** (1982). Croissance et développement. Physiologie végétale II. *Editeur : Hermann, Collection : Méthodes.* 465p. ISBN 978-2-7056-5943-1

**Mehta S.K. & Gaur J.P.** (1999). Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytologist* 143(2), 253-259. https://dx.doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00447.x

Menaceur F., Hazzit M., Mouhouche F., Mohammedi H., Baaliouamer A., Benchabane A. (2016). Phytochemical screening and biological activities of essential oils from leaves of two Algerian Lamiacea plants on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(4): 806-819. https://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2016.1160799

**Mennal H. & Chennafi S.** (2015). Synthèse bibliographique des résultats de recherche sur l'application des huiles essentielles de quelques espèces. *Mémoire de fin de cycle, Master en Sciences Agronomiques Sciences et Techniques de Production Animale, Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana.* 49 pp.

**Meyer S.E. & Carlson S.L.** (2004). Comparative seed germination biology and seed propagation of eight intermountain species of Indian paintbrush. In *Hild A.N.*, *Shaw N.L.*, *Meyer S.E.*, *Booth D.T.*, *Durant M.C. comps. Seed and soil dynamics in shrubland ecosystems: proceedings*, 2002 Augut 12-16, Laramine WY Proceedings RMRS-P-31, Ogden, UT: US. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, 125-130. http://www.fs.fed.us/rm/pubs/rmrs\_p031/rmrs\_p031\_125\_130.pdf

Mihoub A., Chaoui A., El Ferjani E. (2005). Changements biochimiques induits par le cadmium et le cuivre au cours de la germination des graines de petit pois (*Pisum sativum* L.). *Comptes Rendus Biologies* 328(1), 33-41. <a href="https://dx.doi.org/10.1016/j.crvi.2004.10.003">https://dx.doi.org/10.1016/j.crvi.2004.10.003</a>

**Munzuroglu O. & Geckil H.** (2002). Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 43, 203-213. https://dx.doi.org/10.1007/s00244-002-1116-4

**Nambara E. & Marion-Poll A.** (2005). Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Annual Review of Plant Biology*, 56: 165-185.

https://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144046

Ozturk M., Gucel S., Altundag E., Mert T., Gork C., Gork G., Akcicek E. (2012). An overview of the medicinal plants on Turkey. *Ethnopharmacol. Encycl. Life Support Syst.* 6: 181-206. https://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2007.07.040

Patriarca E.J., Cermola F., D'Aniello C., Fico A., Guardiola O., De Cesare D., Minchiotti G. (2021). The multifaceted roles of proline in cell behavior. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9, 728576. https://dx.doi.org/10.3389/fcell.2021.728576

Peralta J.R., Gardea-Torresdey 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). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 66, 727-734. <a href="https://dx.doi.org/10.1007/s001280069">https://dx.doi.org/10.1007/s001280069</a>

Peycru P., Baehr J.C., Cariou F., Grandperrin D., Perrier C. Fogelgesang J.F. & Dupin J.M. (2010). Biologie tout-en-un BCPST 2ème année. 2ème Edition, Editeur : Dunod, Collection : J'intègre. 818p. ISBN 978-2-1005-4491-2

Redondo-Gómez S., Mateos-Naranjo E., Davy A.J., Fernández-Muñoz F., Castellanos E.M., Luque T., Figueroa M.E. (2007). Growth and photosynthetic responses to salinity of the salt-marsh shrub *Atriplex portulacoides*. *Annals of Botany* 100(3), 555-563. <a href="https://dx.doi.org/10.1093/aob/mcm119">https://dx.doi.org/10.1093/aob/mcm119</a>

**Rout G.R., Samantaray S., Das P.** (2000). Effects of chromium and nickel on germination and growth in tolerant and non-tolerant populations of *Echinochloa colona* L. Link. *Chemosphere* 40(8), 855-859. <a href="https://dx.doi.org/10.1016/s0045-6535(99)00303-3">https://dx.doi.org/10.1016/s0045-6535(99)00303-3</a>

**Rucińska-Sobkowiak R.** (2016). Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. *Acta Physiologiae Plantarum* 38, 257. https://dx.doi.org/10.1007/s11738-016-2277-5

**Saadatian M., Aghaei M., Farahpour M., Balouchi Z.** (2013). Chemical composition of lavender (*Lavandula officinallis* L.) extraction extracted by two solvent concentrations. *Global Journal of Medicinal Research*, 1(2): 214-217. <u>ISSN</u>: 2074-0883

**Said M.** (1996). Medicinal herbal. *A research publication of Bait al-Hikmah, Hamdard Foundation, Pakistan* 1, 294 pp.

- **Schauenberg P. & Ferdinand P.** (2010). Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes. *Les Guides du Naturaliste*, 400 pp. <u>ISBN</u> : 9782603017395
- **Siddiqui M.A., Siddiqui H.H., Mishra A., Usmani A.** (2019). Evaluation of cytotoxic activity of Lavandula stoechas aerial parts fractions against HepG2 cell lines. *Current Bioactive Compounds*, 15(9). https://dx.doi.org/10.2174/1573407215666190916102325
- **Sharma S.S. & Dietz K.J.** (2009). The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. *Trends in Plant Science* 14(1), 43-50. https://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.007
- **Siddique A. & Dubey A.P.** (2017). Phyto-toxic effect of heavy metal (CdCl<sub>2</sub>) on seed germination, seedling growth and antioxidant defence metabolism in wheat (*Triticum aestivum* L.) variety HUW-234. *International Journal of Bio-resource and Stress Management* 8(2), 261-267. https://dx.doi.org/10.23910/IJBSM/2017.8.2.1684
- **Siddique A., Kandpal G., Kumar P.** (2018). Proline accumulation and its defensive role under diverse stress condition in plants: An overview. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 12(3), 1655-1659. <a href="https://dx.doi.org/10.22207/JPAM.12.3.73">https://dx.doi.org/10.22207/JPAM.12.3.73</a>
- **Skoula M., Abidi C., Kokkalou E.** (1996). Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. Stoechas growing wild in Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24: 255-260. https://dx.doi.org/10.1016/0305-1978(96)00023-3
- **Sosa S., Altinier G., Politi M., Braca A., Morelli I., Della Logia R.** (2005). Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity. *Phytomedicine*, 12(4): 271-277. <a href="https://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2004.02.007">https://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2004.02.007</a>
- Souihi M., Bousnina A., Touati B., Hassen I., Rouissi M., Ben Brahim N. (2017). Caractérisation morphologique et chimique de deux espèces de Lavande : *Lavandula stoechas* L. et *L. dentata* L. en Tunisie. *Annales de l'INRAT*, 90 : 124-137. <u>ISBN : 0365-4761</u>
- **Sreekanth T.V.M., Nagajyothi P.C., Lee K.D., Prasad T.N.** (2013). Occurrence, physiological responses and toxicity of nickel in plants. *International Journal of Environmental Science and Technology* 10, 1129-1140. <a href="https://dx.doi.org/10.1007/s13762-013-0245-9">https://dx.doi.org/10.1007/s13762-013-0245-9</a>

- **Sterckeman T., Ouvrard S., Leglize P.** (2011). Phytoremédiation des sols. *Techniques de l'Ingénieur*. <a href="https://dx.doi.org/10.51257/a-v1-bio5300">https://dx.doi.org/10.51257/a-v1-bio5300</a>
- **Szabados L. & Savouré A.** (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science* 15(2), 89-97. <a href="https://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009">https://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009</a>
- **Troll W. & Lindsley J.** (1955). A photometric method for the determination of proline. The *Journal of Biological Chemistry* 215(2), 655-660. <u>PMID</u>: 13242563
- **Trovato M., Mattioli R., Costantino P.** (2008). Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*. 19(4), 325-346. <a href="https://dx.doi.org/10.1007/s12210-008-0022-8">https://dx.doi.org/10.1007/s12210-008-0022-8</a>
- **Turner N.C.** (1986). Crop water deficits: A decade of progress. *Advances in Agronomy* 39, 1-51. <a href="https://dx.doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60464-2">https://dx.doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60464-2</a>
- **Upson T. & Andrews S.** (2004). The genus *Lavandula*. Botanical Magazine Monograph. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 456. <u>ISBN-13</u>: 978-1842460108
- Vaculík M., Konlechner C., Langer I., Adlassnig W., Puschenreiter M., Lux A., Hauser M.-T. (2012). Root anatomy and element distribution vary between two *Salix caprea* isolates with different Cd accumulation. *Environmental Pollution* 163, 117-126. https://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2011.12.031
- **Verbruggen N. & Hermans C.** (2008). Proline accumulation in plants: A review. *Amino Acids*. 35(4), 753-759. https://dx.doi.org/10.1007/s00726-008-0061-6
- **Verslues P.E., Agarwal M., Katiyar-Agarwal S., Zhu J., Zhu J.-K.** (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology.* 45(4), 523-539. <a href="https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02593.x">https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02593.x</a>
- **Verslues P.E. & Sharma S.** (2010). Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. *Arabidopsis Book*, 8: e-140. https://dx.doi.org/10.1199/tab.0140

**Welch R.M. & Shuman L.** (1995). Micronutrient nutrition of plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 14 (1), 49-82. doi:10.1080/07352689509701922

**Wilson M.** (2008). Fleurs comestibles : du jardin à la table. *Fides (Editions)*, 278 pp. ISBN-13 : 978-2762127829

Woolhouse H.W. (1983). Toxicity and tolerance in response of plants to metals. *In* Lange O.L., Nobel P.S., Osmond C.B. & Ziegler H. (Eds), *Encyclopaedia of plant physiologie, New Series*, *Vol. 12C, Springer-Verlag, Berlin.* 245-300. https://www.apis.ac.uk/toxicity-and-tolerance-responses-plants-metals

**Zhang W., Chiwocha S.D., Trischuk R., Gusta L.** (2009). Profile of plant hormones and their metabolites in germinated and ungerminated canola (*Brassica napus*) seeds imbibed at 8°C in either GA4+7, ABA, or a saline solution. *Journal of Plant Growth Regulation*, 29(1): 91-105. <a href="https://dx.doi.org/10.1007/s00344-009-9117-4">https://dx.doi.org/10.1007/s00344-009-9117-4</a>

### Résumé

Deux oligo-éléments métalliques, le nickel et le cadmium, ont été testés sur la capacité et la vitesse de germination des graines de *Lavandula stoechas* L., une plante capable de jouer un rôle important dans la décontamination et la phytoremédiation des sols contaminés. Pour cela, des graines ont été mises à germer en présence d'un large spectre de différentes concentrations (0, 100, 200, 300 et 400 ppm) de Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.8/3H<sub>2</sub>O et de NiSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O ; et ce en conditions contrôlées (température fixée à 20 °C et dans l'obscurité).

Les résultats obtenus montrent que les deux métaux lourds ont des effets différents. Pour le NiSO<sub>4</sub>, les deux concentrations les plus faibles (100 et 200 ppm) ont moins d'effet sur la faculté germinative des graines, en revanche, les concentration les plus élevées (300 et 400 ppm) réduisent significativement le taux de germination. Pour des applications de (100 et 200 ppm) en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, très peu de graines germent au bout des expérimentations, pendant que les concentrations de (300 et 400 ppm) inhibent complètement la germination. Des concentrations élevées de ces deux métaux, affectent négativement les longueurs mesurées de l'épicotyle et de la radicule.

**Mots-clés**: Lavandula stoechas L.; capacité de germination; statut de l'eau; mesures biométriques; proline; métaux lourds.

### **Abstract**

Two metallic trace elements, nickel and cadmium, were tested on the capacity and speed of germination of seeds of *Lavandula stoechas L.*, a plant capable of playing an important role in the decontamination and phytoremediation of contaminated soils. For this, seeds were germinated in the presence of a broad spectrum of different concentrations (0, 100, 200, 300 and 400 ppm) of Cd(NO3)2.8/3H2O and NiSO4.6H2O; and this under controlled conditions (temperature set at 20° C. and in the dark). The results obtained show that the two heavy metals have different effects. For NiSO4, the two lowest concentrations (100 and 200 ppm) have less effect on the germination capacity of the seeds, on the other hand, the highest concentrations (300 and 400 ppm) significantly reduce the germination rate. For applications of (100 and 200 ppm) in Cd(NO3)2, very few seeds germinate at the end of the experiments, while concentrations of (300 and 400 ppm) completely inhibit germination. High concentrations of these two metals negatively affect measured epicotyl and radicle lengths.

**Keywords**: *Lavandula stoechas L.*; germination capacity; water status; biometric measurements; proline; heavy metals.