

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques de l'Environnement
Spécialité : Toxicologie Industrielle et Environnementale



Réf :

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

MASTER

Thème

**Étude des effets du plomb et du nickel sur
l'efficacité germinative des graines et sur les
premiers stades de croissance des plantules de
*Marrubium vulgare L.***

Présenté par :

Yousfi Lydia & Djouder Yanis

Soutenu le : 20 Juin 2023

Devant le jury composé de :

Mme	<i>Farhi - Bouadam B.</i>	MCB	Président
Mr	<i>Benadjaoud A.</i>	MCA	Encadreur
Mr	<i>Dadach M.</i>	MCA	Examineur

Année universitaire : 2022 / 2023

REMERCIEMENTS

Nos remerciements s'adressent en premier lieu à l'éternel Dieu, le tout puissant qui nous a prodigué patience et santé, qui nous ont été indispensables tout au long de notre parcours.

Nous tenons à remercier notre encadreur : *Mr Benadjaoud Ali* pour sa patience, et surtout pour sa confiance, ses orientations et ses conseils, sa grande disponibilité et sa bienveillance.

Nos remerciements les plus chaleureux vont aussi à : *Mr Dadach Mohamed* qui nous a assisté et orienté durant la réalisation pratique de ce mémoire. Nous tenons à remercier vivement, Mme Farhi Bouadam B. d'avoir accepté de présider le jury de soutenance et d'évaluer notre travail.

Nous remercions nos enseignants pour l'enseignement qu'ils nous ont donné durant notre cycle universitaire. Sans oublier les membres du jury d'avoir accepté de nous honorer par leur présence au jury de soutenance.

Nous tenons aussi à remercier toute l'équipe exerçant au Laboratoire de Recherche en *Écologie & Environnement*, pour nous avoir accordé leur confiance et leur accueil si chaleureux.

Dédicaces

A Mes très chers : **mon père** et **ma mère** qui sont toujours présents pour m'encourager et me donner de la volonté à continuer et qui m'ont transmis la vie et l'amour.

Ma jolie sœur **Latifa**

Mon frère chéri **Fahem**

Ma petite princesse **Maylis**

Ma cousine **Mounira**

Mon cousin **Abdelhak**

Ma petite famille que j'aime trop merci d'être toujours présent pour moi et mes soucis. Toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.

Sans oublier Ma binôme **LYDIA** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

YANIS

Dédicaces

- Je dédie mon travail :

- À Mon très cher **papa** qui est toujours présent dans mon cœur. Merci **papa** pour tous les encouragements et la volonté que vous m'avez inculquée.

- À celle qui m'a transmis la vie, l'amour, le courage. À Toi **maman** toutes mes joies, mon amour et ma reconnaissance éternelle.

Que Dieu vous bénisse toujours.

Mon frère chéri **koussaila**

Ma sœur **kahina** et son mari **khabat faouzi**

Mes princesses **nawal, sidra** et **nada**

Mes cousins **Rachid** et **youba**

Mes copines : **benchikh fouzia, cylvia** et **yasmine**

- À l'ensemble de mes amis surtout : yacine, hassiba, sassa, monda, hanane, hayet et kheira.

- Sans oublier mon binôme **YANIS** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

LYDIA

%	Pourcentage
°	Degré
°C	Degré Celsius
±	Plus ou moins
[]	Concentration
λ	Longueur d'onde
μg	Microgramme
μL	Microlitre
μM	Micromolaire
ABA	Acide abscissique
BSA	Bovine Sérum Albumine
ETM	Élément trace métallique
Fig.	Figure
GA	Acide gibbérellique
h	Heure
HSP	Protéines de choc thermique
J	Jours
L.	Linné
LEA	Late Embryogenesis Abundant
mM	Millimolaire
mn	Minute
Ni	Nickel
NiSO₄	Sulfate de nickel
Pb	Plomb
Pb(NO₃)₂	Nitrate de plomb
PF	Poids frais
pH	Potentiel hydrogène
PS	Poids sec
ppm	Parties par Million
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
-SH	Radical sulfhydryle
Tab.	Tableau
Tris-HCl	Hydroxyméthyl aminométhane hydrochloride
vs	<i>Versus</i>

I. Introduction	01
II. Synthèse Bibliographique	03
II.1. Aperçu sur l'espèce <i>Marrubium vulgare</i> L.	03
II.1.1. Classification hiérarchique	03
II.1.2. Origine du nom et vertus traditionnelles	03
II.1.3. Distribution	04
II.1.4. Description	04
II.1.5. Ecologie de l'espèce	05
II.1.6. Principes actifs et utilisation	06
II.2. De la graine au développement d'une plantule	08
II.2.1. Structure des graines	08
II.2.2. Maturation des graines	08
II.2.3. Dormance	09
II.2.3.1. Définitions et caractéristiques	09
II.2.3.2. Rôles des téguments de la graine	09
II.2.3.3. Contrôle hormonal	10
II.2.4. Germination des graines	10
II.2.4.1. Imbibition et événements métaboliques associés à la germination	11
II.2.4.2. Effets de l'équilibre hormonal	12
II.2.4.3. Mobilisation des réserves de la graines en germination	12
II.2.5. Développement de la pousse feuillée	12
II.3. Éléments traces métalliques et phytoremédiation	13
II.3.1. Éléments traces métalliques	13
II.3.1.1. Définition	13
II.3.1.2. Source	13
II.3.1.3. Toxicité et effets indirects importants	14
II.3.2. Phytoremédiation	15
II.3.2.1. Définition	15
II.3.2.2. Principaux procédés de phytoremédiation	15
II.3.2.3. Valorisation des phytotechnologies de dépollution	16
II.4. Application au plomb/nickel	16
II.4.1. Plomb	17
II.4.1.1. Effets imposés par le plomb	17
II.4.1.2. Réponses apportées à la phytotoxicité du plomb	20

II.4.1.3. Phytoremédiation appliquée au plomb	21
II.4.2. Nickel	21
II.4.2.1. Effets imposés par le nickel	21
II.4.2.2. Réponses apportées à la phytotoxicité du nickel	23
II.4.2.3. Phytoremédiation appliquée au nickel	25
III. Matériel & Méthodes	26
III.1. Matériel	26
III.1.1. Matériel végétal	26
III.1.1.1. Origine des graines	26
III.1.1.2. Traitement des graines	27
III.1.1.3. Mise à germination des graines	27
III.1.1.4. Plantules issues des germinations	28
III.1.1.5. Tests d'acclimatation	28
III.1.2. Préparation des solutions métalliques	29
III.1.2.1. Solution de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	29
III.1.2.2. Solution de NiSO_4	29
III.2. Méthodes	30
III.2.1. Méthodes appliquées à la germination	30
III.2.1.1. Pourcentages cumulés de germination	30
III.2.1.2. Pourcentages finaux de germination	30
III.2.1.3. Temps moyens de germination	30
III.2.2. Mesures biométriques	30
III.2.3. Teneur en eau	31
III.2.4. Extraction et dosage des protéines	31
III.2.4.1. Principe	31
III.2.4.2. Extraction	31
III.2.4.3. Dosage	32
III.2.4.4. Courbe étalon	32
IV. Résultats & Discussion	33
IV.1. Résultats	33
IV.1.1. Germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L.	33
IV.1.1.1. Pourcentages cumulés de germination des graines traitées au $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	33
IV.1.1.2. Pourcentages cumulés de germination des graines traitées au NiSO_4	34
IV.1.1.3. Pourcentages finaux de germination des graines traitées au $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	34

IV.1.1.4. Pourcentages finaux de germination des graines traitées au NiSO ₄	35
IV.1.1.5. Temps moyens de germination des graines traitées au Pb(NO ₃) ₂	36
IV.1.1.6. Temps moyens de germination des graines traitées au NiSO ₄	37
IV.1.1.7. Effets sur la germination des traitements au plomb vs nickel	38
IV.1.2. Cinétique de la longueur racinaire au cours de la germination	40
IV.1.2.1. Longueur racinaire des traités au Pb(NO ₃) ₂	40
IV.1.2.2. Longueur racinaire des traités au NiSO ₄	41
IV.1.2.3. Effets sur la longueur racinaire des traitements au plomb vs nickel	42
IV.1.3. Longueur des axes hypocotylés	43
IV.1.3.1. Longueur des axes hypocotylés des traités au Pb(NO ₃) ₂	43
IV.1.3.2. Longueur des axes hypocotylés des traités au NiSO ₄	44
IV.1.3.3. Effets sur la longueur des hypocotyles des traitements au plomb vs nickel	45
IV.1.4. Contenu en protéines	46
IV.1.4.1. Protéines des traités au Pb(NO ₃) ₂	46
IV.1.4.2. Protéines des traités au NiSO ₄	47
IV.1.4.3. Effets sur le contenu protéinique des traitements au plomb vs nickel	48
IV.1.5. Cinétique de la longueur du 1 ^{er} axe feuillé	49
IV.1.5.1. Longueur du 1 ^{er} axe feuillé des témoins	49
IV.1.5.2. Longueur du 1 ^{er} axe feuillé des traités au Pb(NO ₃) ₂	50
IV.1.5.3. Longueur du 1 ^{er} axe feuillé des traités au NiSO ₄	51
IV.2. Discussion	51
IV.2.1. Germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L.	51
IV.2.2. Mesures biométriques des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L.	54
IV.2.3. Protéines des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L.	57
IV.2.4. Développement du 1 ^{er} axe feuillé des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L.	59
V. Conclusion	63
VI. Références bibliographiques	65

N°	Titre	Page
01	L'aire de répartition naturelle de <i>Marrubium vulgare</i> L. est indiquée en vert ; introduite en Amérique (en violet).	04
02	Feuilles, fleurs et graines de <i>Marrubium vulgare</i> L.	05
03	Valence optimale de <i>Marrubium vulgare</i> L. en terme de caractéristiques du sol et d'exigences climatiques.	06
04	Structure chimique de quelques di-terpènes issus de <i>Marrubium vulgare</i> L. (Lodhi et al. 2017).	07
05	Anatomie d'une graine qui se développe à partir de l'ovule.	08
06	Evolution de la concentration en acide gibbérellique (GA) et en acide abscissique (ABA) au cours des trois stades fondamentaux de développement de la graine.	10
07	Evolution de la quantité d'eau au cours des trois phases de la germination.	11
08	Éléments traces métalliques : sources et effets toxiques sur les différents partenaires de la chaîne alimentaire (Saxena et al. 2019).	14
09	Comparaison des principales technologies de phytoremédiation (Grison, 2022).	15
10	Représentation de la valorisation des phytotechnologies de dépollution qui génèrent une biomasse chargée en éléments traces métalliques (Grison, 2022).	16
11	Effets du plomb sur la photosynthèse, les irrégularités mitotiques, la respiration, le régime hydrique et la nutrition minérale induite par le plomb. Les signes ↑ et ↓ indiquent respectivement une augmentation et une diminution des activités (Sharma and Dubey, 2005).	19
12	Les trois modalités de réponse des cellules de plantes aux effets toxiques du plomb : exclusion, détoxification et mécanismes de défense non-spécifiques (Sharma and Dubey, 2005).	20
13	Effets induits par la phytotoxicité du nickel (Sachan and Lal, 2017a).	22
14	Stratégies adaptatives développées par les plantes contre la toxicité du nickel (Sachan and Lal, 2017a).	24

15	Multiplés mécanismes dans la tolérance, l'hyper accumulation et la phytoremédiation du nickel chez les plantes (Sachan and Lal, 2019).	25
16	Positionnement géographique du site de provenance des fruits de <i>Marrubium vulgare</i> L. Carte préparée et fournie par Dadach M. (2023).	26
17	Opération de désinfection de surface des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. par une solution d'eau de javel à 5% (v/v).	27
18	Graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. à différentes phases de germination. De gauche à droite : boîte correspondant au témoin en imbibition (J 2), percée (J 4) et développement (J 10) de la radicule.	28
19	Présentation du nitrate de plomb en poudre et ses quelques caractéristiques physico-chimiques.	29
20	Présentation des cristaux de sulfate de nickel et ses quelques caractéristiques physico-chimiques.	29
21	Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de BSA (sérum albumine bovine) de 1 mg/mL (densité optique lue $\lambda = 595$ nm).	32
22	Evolution des pourcentages cumulés moyens de germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en fonction du temps.	33
23	Evolution des pourcentages cumulés moyens de germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en NiSO_4 [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en fonction du temps.	34
24	Effets des différentes concentrations en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] sur les pourcentages cumulés moyens finaux de germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. comparativement aux graines témoins [0 ppm]. Ces pourcentages ont été enregistrés au 20 ^{ème} jour après la 1 ^{ère} mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 3 essais différents avec calcul de l'écart-type.	35
25	Effets des différentes concentrations en NiSO_4 [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] sur les pourcentages cumulés moyens finaux de germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. comparativement aux graines témoins [0 ppm]. Ces pourcentages ont été enregistrés au 20 ^{ème} jour après la 1 ^{ère} mise à	36

- germination des graines et représentent une valeur moyenne de 3 essais différents avec calcul de l'écart-type.
- 26** Effets des différentes concentrations en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] sur les temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm]. Ces temps représentent une valeur moyenne de 3 essais différents avec calcul de l'écart-type. **37**
- 27** Effets des différentes concentrations en NiSO_4 [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] sur les temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm]. Ces temps représentent une valeur moyenne de 3 essais différents avec calcul de l'écart-type. **38**
- 28** Evolution des longueurs racinaires moyennes des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en fonction du temps. **40**
- 29** Evolution des longueurs racinaires moyennes des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations en NiSO_4 [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en fonction du temps. **41**
- 30** Effets des différentes concentrations en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] sur les longueurs des axes hypocotylés, en sus des longueurs racinaires, des plantules de *Marrubium vulgare* L. Les mesures ont été réalisées au 20^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 9 mesures différentes \pm intervalle de confiance. **43**
- 31** Effets des différentes concentrations en NiSO_4 [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] sur les longueurs des axes hypocotylés, en sus des longueurs racinaires, des plantules de *Marrubium vulgare* L. Les mesures ont été réalisées au 20^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 9 mesures différentes \pm intervalle de confiance. **44**
- 32** Effets des différentes concentrations en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ [100, 200, 30, 400, 500 et 600 ppm] sur les quantités en protéines (mg/100 mg de poids sec) des plantules de *Marrubium vulgare* L. par rapport aux témoins. Les dosages **47**

- ont été réalisés au 20^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 3 dosages différents \pm écart-type.
- 33** Effets des différentes concentrations en NiSO₄ [100, 200, 30, 400, 500 et 600 ppm] sur les quantités en protéines (mg/100 mg de poids sec) des plantules de *Marrubium vulgare* L. par rapport aux témoins. Les dosages ont été réalisés au 20^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 3 dosages différents \pm écart-type. **48**
- 34** Evolution des longueurs du 1^{er} axe feuillé des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines témoins [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations en Pb(NO₃)₂ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en fonction du temps. Ces mesures ont été réalisées chaque semaine depuis le transfert des plantules en pots, effectué au 10^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination des graines. **50**
- 35** Suivi en pots des longueurs du 1^{er} axe feuillé des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines témoins [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations en Pb(NO₃)₂ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en fonction du temps. De droite à gauche, respectivement les plantules témoins, les plantules traitées par les concentrations en pots dans l'ordre croissant. L'image d'en haut représente les plantules au bout de la 3^{ème} semaine après transfert en pots ; l'image d'en bas représente les plantules au bout de la 6^{ème} semaine après le transfert en pots. **60**

N°	Titre	Page
01	Contenu en plomb et longueurs des racines et des parties aériennes de plantules de riz cultivés dans du sable pendant 10 et 20 jours en présence de 500 μM et 1000 μM de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (Verma and Dubey, 2003).	17
02	Pourcentages cumulés moyens finaux enregistrés au 20 ^{ème} jour du suivi de la germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en Pb et Ni.	39
03	Temps moyens de germination (en jours) des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en Pb et Ni.	39
04	Rapport Pb / Ni déduit des mesures des longueurs racinaires moyennes des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. issues des graines traitées par différentes concentrations [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ et en NiSO_4 en fonction du temps (4 ^{ème} , 12 ^{ème} et 20 ^{ème} jour).	42
05	Rapport Pb / Ni et longueurs des axes hypocotylés des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. issues des graines non traitées (témoins) et des graines traitées par différentes concentrations [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ et en NiSO_4 . Les mesures ont été réalisées au 20 ^{ème} jour depuis la 1 ^{ère} mise à germination et représentent une valeur moyenne de 9 mesures différentes \pm intervalle de confiance.	45
06	Rapport Pb / Ni et longueurs des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. issues des graines non traitées (témoins) et des graines traitées par différentes concentrations [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ et en NiSO_4 . Les mesures ont porté sur les longueurs racinaires qu'on a additionnées aux longueurs des axes hypocotylés.	46
07	Rapport Pb / Ni et contenu protéinique des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. issues des graines non traitées (témoins) et des graines traitées par différentes concentrations [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ et en NiSO_4 . Les dosages ont été réalisés au 20 ^{ème} jour depuis la 1 ^{ère} mise à germination et représentent une valeur moyenne de 3 dosages différents \pm écart-type.	49

INTRODUCTION

I- Introduction

Le problème de l'eau, du sol et de l'environnement contaminés par les éléments traces métalliques est aujourd'hui très préoccupant pour tous les pays. Ces éléments tels que le plomb, le cadmium, le cuivre, le zinc et le mercure ne sont pas aussi facilement biodégradés et persistent dans l'environnement pendant de longues années. Leur présence est extrêmement dangereuse pour les êtres vivants, ne serait-ce que via la chaîne alimentaire. Il est donc a priori très important de mesurer, comprendre et contrôler la pollution induite par ces métaux lourds (Mitra et al. 2022).

Etant sessiles, les plantes se doivent de s'adapter aux différentes compositions d'un sol en ce qui concerne l'accomplissement de leur cycle de vie qui débute par la germination des graines à la production de biomasse via le stade ultime de reproduction. Pour ce faire, elles puisent du sol en premier lieu des éléments nutritifs dits essentiels, comme par exemple le Ni, dont les besoins sont infimes mais dont l'absence ou une carence peut diminuer ou entraver la croissance et le développement d'une plante. Au contraire, les éléments non essentiels, tel que le Pb sont dangereux pour les plantes même à faible concentration (Raychaudhuri et al. 2021).

Certains éléments peuvent s'accumuler dans les tissus végétaux en dépit de leur nocivité, sans effets secondaires évidents, ni répercussions sur le rendement. Tout dépend de la capacité de tolérance exprimée par la plante, de son stade de croissance, de la nature de l'élément métallique en cause, de sa concentration et du temps d'exposition (Hassan et al. 2019 ; Zulfiqar et al. 2019).

L'objectif de notre travail est axé sur l'éventualité de sélectionner une espèce végétale exprimant non seulement des potentialités de tolérance, mais aussi capable d'apporter des solutions durables à la dépollution et la restauration d'un sol contaminé. *Marrubium vulgare* L. peut en être une très bonne alternative dans le sens où c'est une espèce assez commune dans nos régions, abondante, capable de tolérer des environnements assez rudes et considéré de surcroît comme une plante d'intérêt aux multiples vertus thérapeutiques de premier ordre (Yabrir, 2019 ; Ačimovič et al. 2020).

Dans cette perspective, notre travail a été consacré à une étude des effets de deux éléments métalliques, Pb et Ni, sur la germination des graines du *Marrubium vulgare* L., ainsi que leurs incidences sur les premiers stades de la croissance et de développement des plantules, en vue d'entrevoir une perspective de recommandation ou pas en phytoremédiation.

Pour réaliser ce travail, le Pb a été utilisé dans le milieu de germination des graines de *Marrubium vulgare* L., sous la forme de nitrate de plomb [Pb(NO₃)₂], aux concentrations de [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm]. C'est ce qui a été testé également avec le nickel dans les mêmes conditions, apporté sous forme de sulfate de nickel [NiSO₄].

La germination a été appréciée par la détermination des pourcentages de germination moyens cumulés au cours du temps (20 jours), du pouvoir germinatif obtenu au bout des expérimentations et par les temps moyens de germination. Durant la durée de cette germination, l'expansion racinaire a été mesurée tous les 4 jours.

Après la vingtaine de jours consacrée au suivi de la germination et à l'allongement racinaire, des mesures biométriques ont été effectuées sur les axes hypocotylés des plantules qui se sont développées, ainsi que la détermination de leur statut hydrique, sans oublier le dosage de leur contenu protéinique selon le protocole de **Bradford (1976)**.

Une partie des plantules qui se sont développées 10 jours après la 1^{ère} mise à germination ont été récupérées et plantées en pots. Le premier axe feuillé émergent a été mesuré hebdomadairement durant 6 semaines.

**SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

II- Synthèse bibliographique

II-1- Aperçu sur l'espèce *Marrubium vulgare* L.

Le Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) est une espèce très répandue dans le bassin méditerranéen (Ačimovič et al. 2020). C'est une plante appartenant à la famille des Lamiacées, une famille cosmopolite relativement importante avec environ 7000 espèces et 260 genres. Les Lamiacées sont aussi bien des plantes herbacées que ligneuses (Zhao et al. 2021). Riches en huile essentielle souvent constituée de terpènes oxydés (terpénols, terpénones), de nombreuses espèces sont utilisées pour leurs propriétés condimentaires (thym, sarriette, serpolet, romarin, sauge, origan), alimentaires (menthes) et/ou médicinales (Michel et al. 2020).

II-1-1- Classification hiérarchique

Le Marrube est ainsi classé (http://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/107397/tab/taxo) :

Règne : Plantae Haeckel, 1866

Sous-Règne : Viridaeplantae

Classe : Equisetopsida C. Agardh, 1825

Clade : Spermatophyta

Sous-Classe : Magnoliidae Novak ex Takht., 1967

Super-Ordre : Asteranae Takht., 1967

Ordre : Lamiales Bromhead, 1838

Famille : Lamiaceae Martinov, 1820

Sous-Famille : Lamioideae Harley, 2003

Tribu : Marrubieae Vis., 1847

Genre : *Marrubium* L., 1753

Espèce : *Marrubium vulgare* L., 1753

II-1-2- Origine du nom et vertus traditionnelles

Le Marrube est qualifié de plante amère, son nom est d'ailleurs issu de l'hébreu *marob*, qui signifie *jus amer*. Depuis l'antiquité, le Marrube vulgaire dit encore blanc fait partie de la thériaque et était utilisé couramment pour ses vertus. En Egypte antique, il était nommé *graine d'Horus* (dieu égyptien) et était employé pour ses nombreuses propriétés. Ce surnom égyptien est à l'origine de son nom anglais, *white Horehound* (Lodhi et al. 2017).

Le nom de Marrube blanc pourrait provenir également du latin *Marrubium*, issu de la ville romaine *Maria urbs*. En plus des latins, les Grecs de l'Antiquité l'utilisaient également et Dioscoride la préconisait en décoction pour soigner des affections pulmonaires comme l'asthme ou encore la toux (Lodhi et al. 2017).

Le Marrube vulgaire est nommé *Marriouth* ou encore *Maruyeth* dans nos régions. Associé au miel, il est utilisé contre les maladies respiratoires, c'est aussi un très bon apéritif et améliore le fonctionnement de l'estomac (Zidat, 2016).

II-1-3- Distribution

Marrubium vulgare est une plante cosmopolite qui pousse presque dans toute l'Europe surtout dans ses régions méditerranéennes ainsi que dans l'Europe méridionale et médiane. C'est une plante commune en Afrique du Nord, en Afrique du Sud-Ouest et en Asie centrale (Fig. 1) (Lodhi et al. 2017).

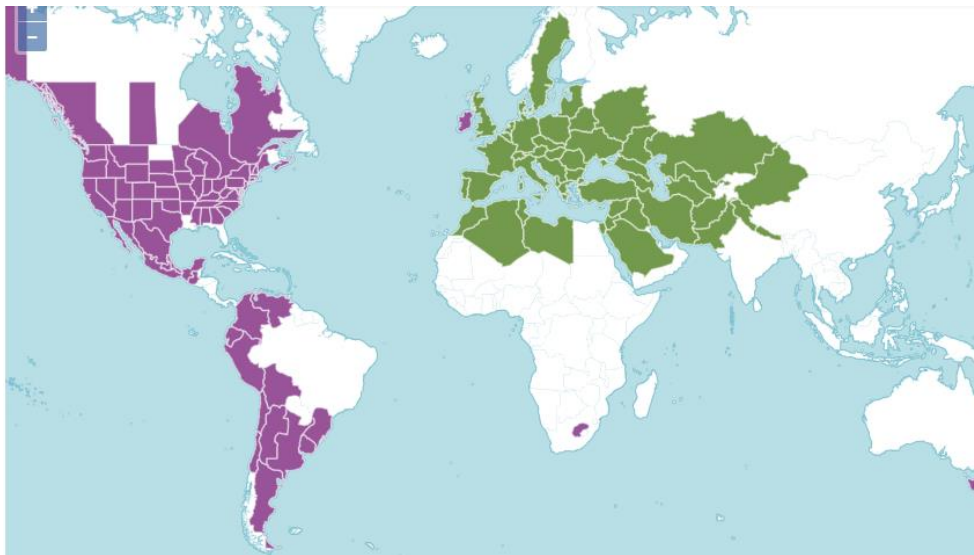


Figure 1 : L'aire de répartition naturelle de *Marrubium vulgare* L. est indiquée en vert ; introduite en Amérique (en violet).

Source : <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:449990-1>

II-1-4- Description

Selon la description de Coste (<http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-40975-description>), le Marrube blanc est une plante vivace de 30-80 cm, tomenteuse-blanchâtre, à odeur pénétrante. Ses tiges sont épaisses, simples ou peu rameuses. Ses feuilles sont pétiolées, ovales-orbiculaires, en cœur ou en coin à la base, irrégulièrement crénelées, ridées, tomenteuses, vertes en dessus (Fig. 2).

Les fleurs sont blanches, en verticilles axillaires nombreux, multiflores, très compacts, espacés sur les tiges. Le calice étant velu et laineux ; la corolle soyeuse et bilabée (**Fig. 2**).

La capsule du fruit, l'akène, contient environ 3 à 4 graines (**Fig. 2**). Ces graines de 1 à 2,5 mm de long sont de forme ovoïde, légèrement aplaties dans leur contour avec une surface rugueuse (**Nedjimi et al. 2020**).

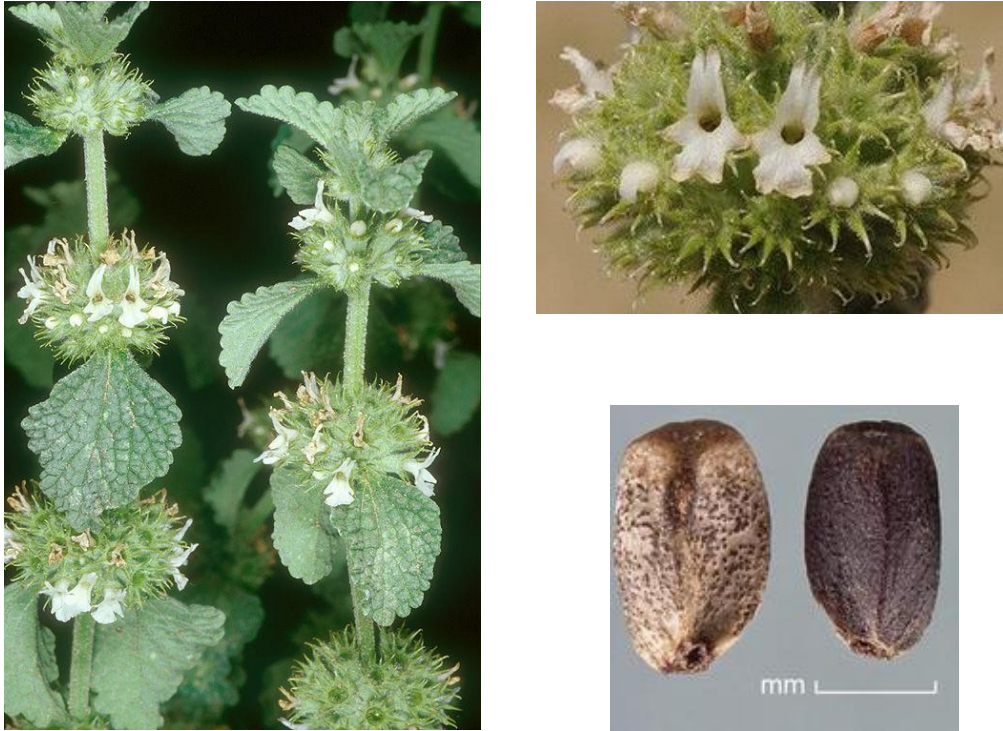


Figure 2 : Feuilles, fleurs et graines de *Marrubium vulgare* L. Source feuilles et fleurs : <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:449990-1/> / Source graines : D. Walters and C. Southwick, Table Grape Weed Disseminule ID, USDA APHIS PPQ, Bugwood.org

II-1-5- Ecologie de l'espèce

Pour ce qui est des paramètres édaphiques, *Marrubium vulgare* L. est lié à des sols de texture légère (limoneux), à pH légèrement alcalin ($7,5 < \text{pH} < 8,0$), peu humides (xérophiles velues, aiguillonnées et cuticule épaisse), moyennement à fortement riches en nutriments ($\approx 1250 \mu\text{g N/I}$) et assez pauvres en matières organiques (milieu carbonaté). L'espèce ne tolère pas les terres gorgées d'eau, ni d'ailleurs la salinité (**Fig. 3**).

Pour ce qui est des caractéristiques climatiques, *Marrubium vulgare* L. est exigeante en intensité lumineuse (perhéliophile 75 000 lux), une humidité atmosphérique intermédiaire (40%), une température euryméditerranéenne ou bien méditerranéo-atlantique ($T \approx 13^\circ\text{C}$) et une continentalité subocéanique (amplitude thermique $\approx 19^\circ\text{C}$) (**Fig. 3**).

Dans la steppe algérienne, *Marrubium vulgare* L. préfère l'aridosol (sol calcimagnésique xérique) à croute calcaire, moyennement à fortement riches en matière organique, peu humides et à pH légèrement alcalin (Bouterfas et al. 2013 ; Nedjimi et al. 2020).

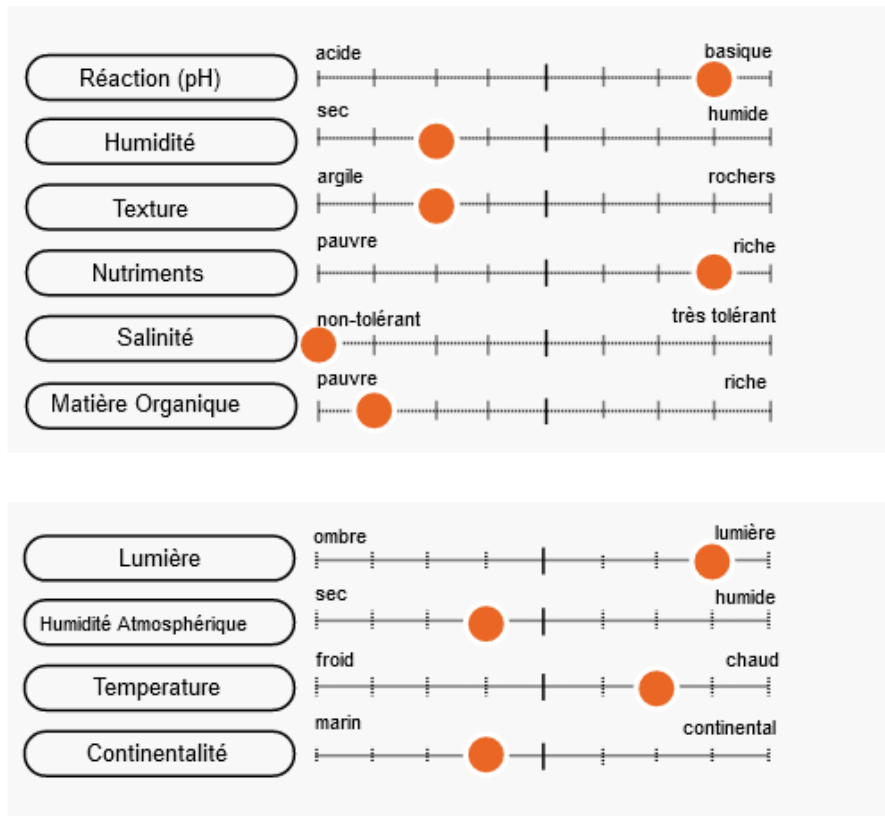


Figure 3 : Valence optimale de *Marrubium vulgare* L. en terme de caractéristiques du sol et d'exigences climatiques. Source : <http://www.tela-botanica.org/bdtx-nn-40975-ecologie>

II-1-6- Principes actifs et utilisation

Marrubium vulgare L. est une plante riche en différents principes actifs (Lodhi et al. 2017 ; Yabrir, 2019 ; Ačimovič et al. 2020 ; Hayat et al. 2020 ; Michel et al. 2020), comme :

- Des lactones di-terpéniques labdaniques : marrubiine, prémarrubiine, ... (Fig. 4),
- Des glycosides de phénylpropanoïdes : verbascoside, ...
- Des flavonoïdes,
- Des flavones méthoxylées,
- Des composés azotés caractéristiques de la famille des lamiacées,
- Des tanins spécifiques des lamiacées,
- Des mucilages,
- Des huiles essentielles : α -pinène, limonène, etc.

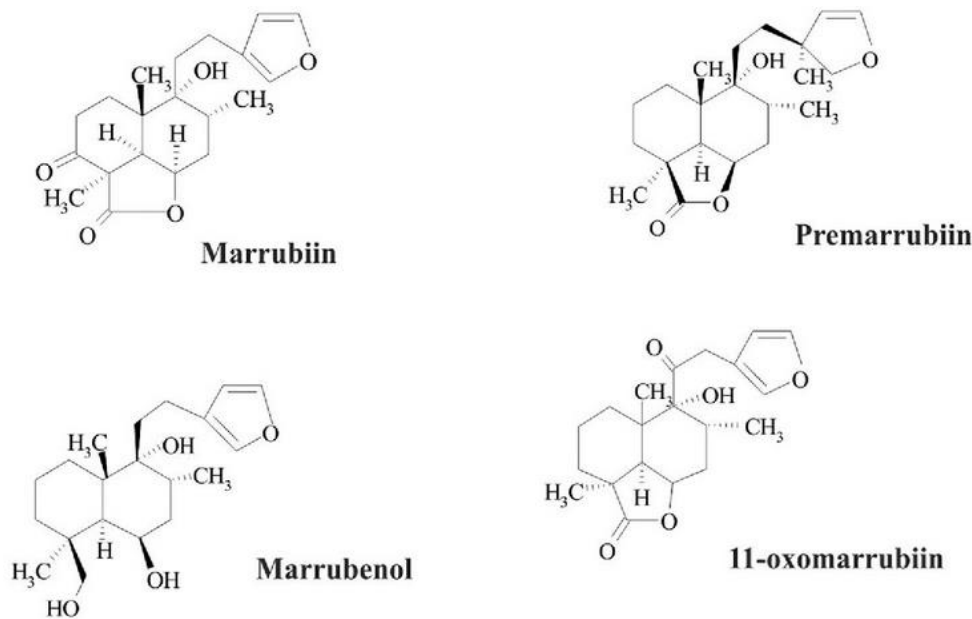


Figure 4 : Structure chimique de quelques di-terpènes issus de *Marrubium vulgare* L. (Lodhi et al. 2017).

Marrubium vulgare L. est connu pour ses vertus expectorantes (expulsion du mucus), antitussives, béchiques (contre la toux sèche) et fluidifiantes. Il peut être utilisé en cas de toux grasse et d'inflammation des voies respiratoires. C'est la marrubiine qui exerce un effet fluidifiant directement sur les sécrétions de la muqueuse bronchique et facilite ainsi l'expectoration. Sa composition en essences aromatiques (α -pinène, limonène) offre aux extraits de marrube blanc des vertus antiseptiques pulmonaires.

En raison de ses composés phénoliques variés (verbascoside, forsythoside B, arenarioside et ballotetroside), l'extrait de Marrube blanc a une action antioxydante au sein de l'organisme.

Il possède des propriétés stimulantes hépatiques, cholagogues (évacuation de la bile) et cholérétiques (sécrétion de bile) qui permettent de stimuler la production de bile et son évacuation par la vésicule biliaire. Il est particulièrement utile en cas de digestion difficile, d'insuffisance biliaire ou de manque d'appétit.

C'est aussi un excellent tonique naturel à utiliser en cas de fatigue, de convalescence ou d'anémie.

Enfin, le marrube blanc a des effets antispasmodiques, analgésiques, hypoglycémiant, anti-inflammatoires et hypotenseurs. A ce titre, il pourrait être utilisé pour traiter le diabète, l'obésité et la cellulite (Yabrir, 2019 ; Ačimovič et al. 2020 ; Hayat et al. 2020 ; Michel et al. 2020).

II-2- De la graine au développement d'une plantule

Le développement des plantes est un processus qui débute par la germination de la graine. Les graines sont des organes quiescents, très déshydratées, leur contenu en eau est de près de 5% et les réactions métaboliques y sont difficilement détectables (**Hopkins, 2003**).

II-2-1- Structure des graines

Les graines se développent dans l'ovaire de la fleur, où un embryon se forme. Cet embryon comprend un axe embryonnaire qui porte un ou plusieurs cotylédons. A l'une des extrémités de l'axe embryonnaire se trouve la gemmule qui formera la tige feuillée. A l'autre extrémité la radicule produira les racines (**Fig. 5**).

L'embryon qui se développe dans l'ovaire est entouré d'un tissu nutritif, l'albumen. Les graines albuminées contiennent à maturité un albumen plus ou moins abondant, chargé de réserves. Les graines ex-albuminées contiennent des embryons volumineux renfermant les réserves nutritives, principalement dans leurs cotylédons.

La graine est entourée d'une enveloppe dure, qui provient des téguments qui entourent l'ovule lors de son développement dans l'ovaire (**Hopkins, 2003**).

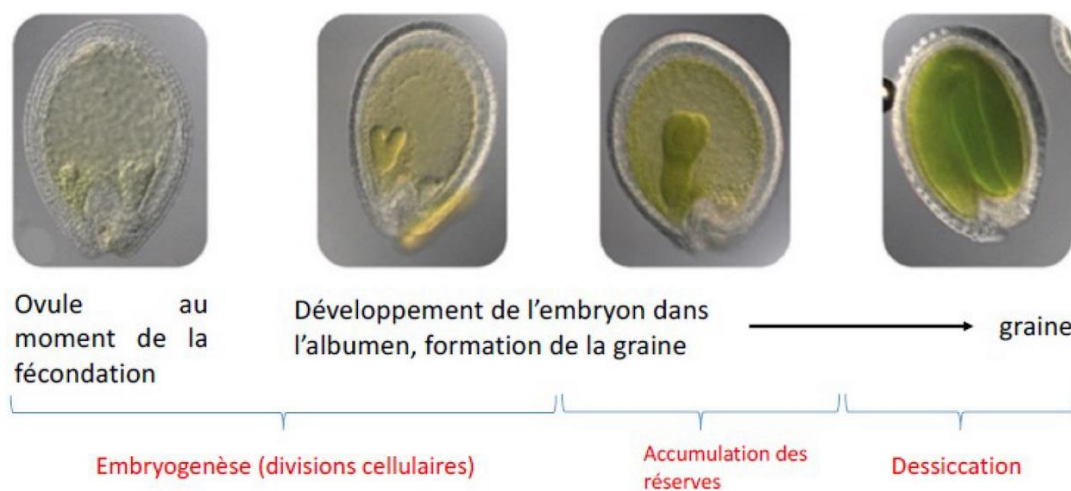


Figure 5 : Anatomie d'une graine qui se développe à partir de l'ovule. Source : <https://www.studocu.com/fr/document/sorbonne-universite/biologie-vegetale/chapitre-3-germination-et-dormance/8045402>

II-2-2- Maturation des graines

La maturation de la plupart des graines se caractérise par une accumulation de matières organiques, principalement des glucides ou des lipides, et des protéines. Des sels minéraux, en particulier le phosphate, sont stockés sous forme complexée avec l'acide phytique.

La phase tardive de maturation est associée à une déshydratation progressive. Elle entraîne la mise en place de propriétés cellulaires de tolérance à la dessiccation et de quiescence métabolique qui permettent à la graine mature de survivre à l'état sec (**Fig. 5**).

Le début de la dessiccation des graines s'accompagne d'une synthèse intense et transitoire d'acide abscissique suivie de l'accumulation d'oligosaccharides, d'osmo-protectants (proline par exemple) et de protéines, notamment des protéines de réserves et des protéines de stress thermorésistantes (HSP pour *Heat Shock Proteins*) et des protéines LEA (*Late Embryogenesis Abundant*) qui participent à l'acquisition de la tolérance à la dessiccation (**Morot-Gaudry et al. 2021**).

II-2-3- Dormance

Chez les plantes produisant des graines orthodoxes, la capacité de germination se perd au cours de la phase de maturation. Il y a mise en place de la dormance primaire, contrôlée par l'acide abscissique (**Hopkins, 2003 ; Baskin & Baskin 2004 ; Morot-Gaudry et al. 2021**).

II-2-3-1- Définitions et caractéristiques

La dormance primaire est définie comme l'incapacité temporaire d'une graine viable à germer lorsque les conditions environnementales sont favorables à la germination. La profondeur de dormance dépend du génotype et des conditions environnementales au cours du développement et de la maturation des graines.

La dormance est soit imposée par les téguments, on parle alors de dormance tégumentaire soit installée dans l'embryon lui-même, qui demeure dans ce cas incapable de germer même sorti de ses téguments, on parle alors de dormance embryonnaire.

Après le détachement de la graine de la plante mère, la dormance primaire est naturellement levée au cours du temps. Si les graines non dormantes rencontrent des conditions défavorables à la germination sur une période prolongée, elles peuvent entrer à nouveau dans un état de dormance, dit dormance secondaire, non établie sur la plante mère (**Mazliak, 1998 ; Marouf & Raynaud, 2007 ; Morot-Gaudry et al. 2021**).

II-2-3-2- Rôles des téguments de la graine

Les téguments de la graine peuvent être responsables de la dormance, soit parce qu'ils sont imperméables à l'eau et/ou à l'oxygène, composés nécessaires à la reprise d'activité métabolique, soit parce qu'ils contiennent des substances inhibitrices de la germination, ou piégeant l'oxygène, soit par leur résistance mécanique (**Hopkins, 2003**).

II-2-3-3- Contrôle hormonal

L'acide abscissique et l'acide gibbérellique jouent un rôle déterminant dans la mise en place et la levée de la dormance. Pour induire la dormance embryonnaire, l'ABA est synthétisé dans l'embryon. Cette synthèse est associée à un déclin de la teneur en acide gibbérellique (**Fig. 6**). L'augmentation du rapport ABA/GA qui s'ensuit est très défavorable à la germination, alors que la graine possède encore une teneur en eau qui la rendrait possible (Foley, 2001 ; Morot-Gaudry et al. 2021).

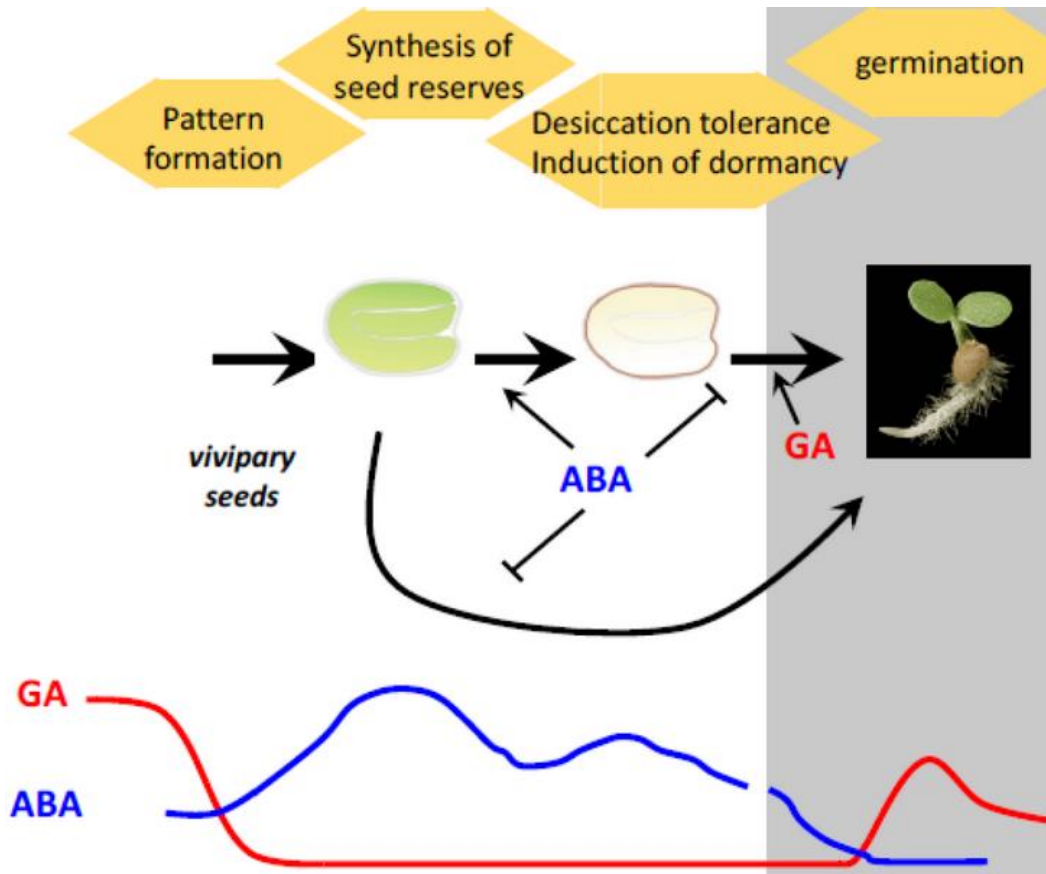


Figure 6 : Evolution de la concentration en acide gibbérellique (GA) et en acide abscissique (ABA) au cours des trois stades fondamentaux de développement de la graine. Source : <https://www.studocu.com/fr/document/sorbonne-universite/biologie-vegetale/chapitre-3-germination-et-dormance/8045402>

II-2-4- Germination des graines

La germination est définie comme la somme des événements qui vont de l'imbibition de la graine sèche non dormante et viable, qui permet la réactivation métabolique, à la percée radriculaire, c'est-à-dire la rupture des téguments et la sortie de la radicule par élévation cellulaire.

La germination exige donc des conditions favorables externes, qui sont la disponibilité en eau, en oxygène et une température compatible avec un métabolisme cellulaire actif ; et internes, la levée de dormance (Hopkins, 2003 ; Baskin and Baskin 2004 ; Finch-Savage and Leubner-Metzger 2006 ; Morot-Gaudry et al. 2021).

II-2-4-1- Imbibition et événements métaboliques associés à la germination

La germination débute par la réhydratation de la graine mature sèche non dormante et s'achève à la sortie de l'embryon. Elle s'opère en 3 phases (Fig. 7) (Hopkins, 2003 ; Heller et al. 2004 ; Morot-Gaudry et al. 2021) :

- **Phase I** : une réhydratation rapide, qui dure quelques heures, permet à la graine d'augmenter de volume. L'entrée d'eau permet une transition de phase des membranes cellulaires et conduit alors à une fuite de solutés et de petits métabolites hors de la graine. En même temps, le métabolisme de la graine est activé : reprise de la respiration, mitochondries fonctionnelles assurent une alimentation en ATP suffisante et synthèse protéique après traduction d'ARNm stockés au cours du développement de la graine. En parallèle, des systèmes élaborés s'occupent de la réparation des organites, des membranes, de l'ADN et des protéines endommagés par la dessiccation, le stockage et la réhydratation.

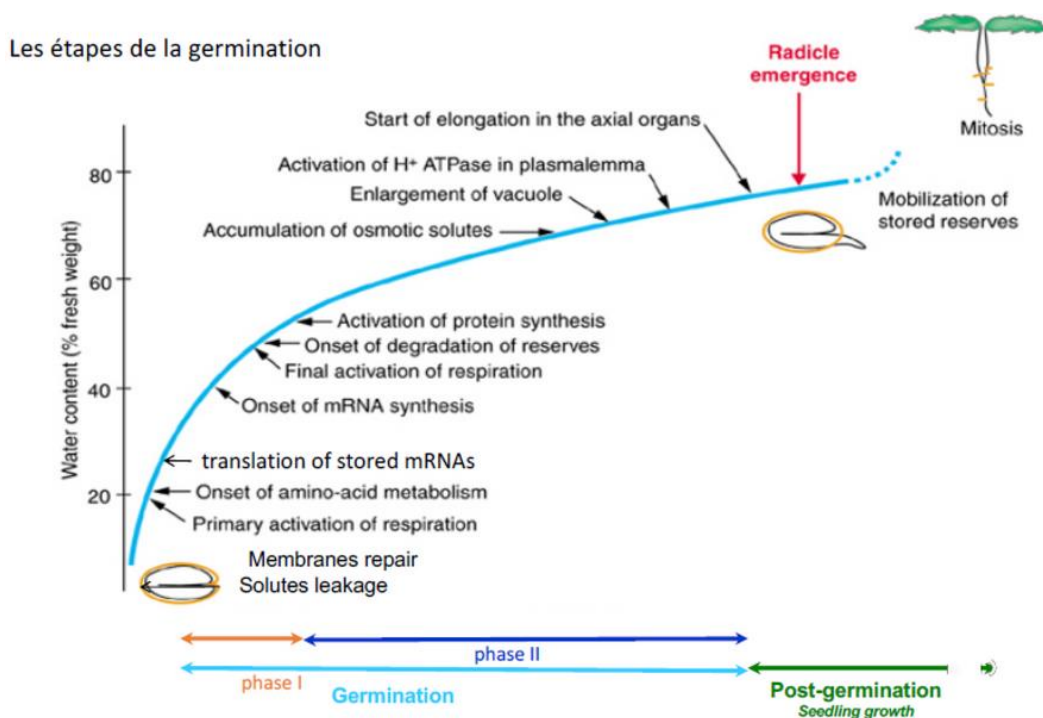


Figure 7 : Evolution de la quantité d'eau au cours des trois phases de la germination.
Source : <https://www.studocu.com/fr/document/sorbonne-universite/biologie-vegetale/chapitre-3-germination-et-dormance/8045402>

- **Phase II** : teneur en eau quasi stationnaire et de durée variable. Tous les mécanismes engagés en phase I continuent à fonctionner et la synthèse des protéines s'active. C'est une étape de préparation d'un état métabolique permettant la croissance cellulaire, l'allongement de l'axe embryonnaire et l'entrée dans un programme de développement de la plantule (**Fig. 7**).

- **Phase III** : nouvelle prise d'eau et d'une durée de quelques jours. C'est une phase qui commence généralement par la percée de la radicule, qui s'engage alors dans une croissance rapide par élongation et reprise de la division cellulaire. L'activité respiratoire augmente à nouveau et la teneur en eau atteint son maximum lors de l'émergence des parties aériennes de la jeune plantule. Tous ces événements concernent la dégradation des réserves puis, progressivement, le passage vers une croissance autotrophe (**Fig. 7**).

II-2-4-2- Effets de l'équilibre hormonal

Durant les phases I et II, les graines catabolisent l'ABA qu'elles contenaient à l'état sec en acide phaséique, un métabolite inactif, et produiraient davantage d'acide gibbérellique (**Fig. 6**). Un rapport ABA/GA plus faible est favorable à la germination. Il peut conduire à la synthèse d'enzymes de dégradation des parois cellulaires facilitant la percée de la radicule. Les acides gibbérelliques stimuleraient l'élongation cellulaire en modifiant les propriétés rhéologiques des parois (**Morot-Gaudry et al. 2021**).

II-2-4-3- Mobilisation des réserves de la graine en germination

Les réserves accumulés dans les organes de stockage de la graine, cotylédons ou albumen sont massivement mobilisés. Leur dégradation apporte l'énergie nécessaire à la croissance de la plantule jusqu'à ce qu'elle devienne autotrophe. Dans ce processus, interviennent des enzymes de dégradation des réserves, qui sont pour la plupart stimulées par les gibbérellines et réprimées par l'ABA (**Hopkins, 2003 ; Heller et al. 2004 ; Morot-Gaudry et al. 2021**).

II-2-5- Développement de la pousse feuillée

L'axe caulinaire qui émerge s'allonge. C'est soit l'hypocotyle qui s'allonge d'abord, propulsant les cotylédons et les premières feuilles qui y sont enfermées hors du sol (germination épigée) ; soit l'hypocotyle reste court et compact, les cotylédons demeurent dans le sol et c'est l'épicotyle qui s'allonge fortement, propulsant les feuilles hors du sol (germination hypogée).

L'allongement de l'axe caulinaire résulte à la fois des divisions et du grandissement des cellules produites par la division des cellules du méristème apical caulinaire. La vitesse et

l'ampleur de l'allongement sont soumis à divers contrôles comme ceux exercés par la nutrition, les hormones et les facteurs de l'environnement (lumière et température par exemple). La taille définitive de la pousse feuillée est déterminée par le taux et l'ampleur de l'allongement des entre-nœuds, qui sont les segments compris entre les nœuds.

L'augmentation de l'activité de division cellulaire génère des primordiums foliaires, qui forment de petites protubérances sur les flancs du méristème. L'initiation des feuilles se déroule selon une séquence ordonnée, qui est spécifique d'une espèce et qui détermine la disposition des feuilles, ou phyllotaxie, sur la tige adulte (**Hopkins, 2003**).

II-3- Eléments traces métalliques et phytoremédiation

Les activités humaines sont largement responsables des pollutions des sols et des eaux et plus généralement des atteintes globales à l'environnement. Elles sont impactées par des biocides (herbicides, insecticides, fongicides, ...), des hydrocarbures ou des métaux et éléments inorganiques toxiques (Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Hg, Sn, As, ...). Sur le long terme, la nature est capable de s'adapter à certains types de pollutions, notamment grâce à l'activité des microorganismes et des végétaux (**Grison, 2022**).

II-3-1- Eléments traces métalliques

II-3-1-1- Définition

Eléments naturellement présents dans les sols dont certains sont indispensables aux plantes. Ils font partie des oligo-éléments et des éléments traces. On utilise également l'expression métaux lourds, qui correspond à une définition physique (masse volumique supérieure à 5 g/cm³) ou bien oligo-éléments. Les ETM les plus connus pour leur dangerosité sont le plomb (Pb), le mercure (Hg), le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le cuivre (Cu), le nickel (Ni), le zinc (Zn) (**Fig. 8**). Il faut ajouter à cette liste l'arsenic (As) et le sélénium (Se), qui ne sont que des éléments traces et pas des métaux (**Duffus, 2002 ; Ali and Khan, 2018a**).

II-3-1-2- Source

Certaines exploitations minières intensives et activités industrielles métallurgiques sont à l'origine de pollutions des sols et des systèmes aquatiques, dues aux éléments traces métalliques. Un problème majeur, puisque le sol exerce des fonctions essentielles qui déterminent en grande partie la production des produits alimentaires et la qualité de l'eau (**Fig. 8**). De plus, les ETM ne sont pas biodégradables et persistent donc dans les organismes et les écosystèmes contaminés (**Grison, 2022**).

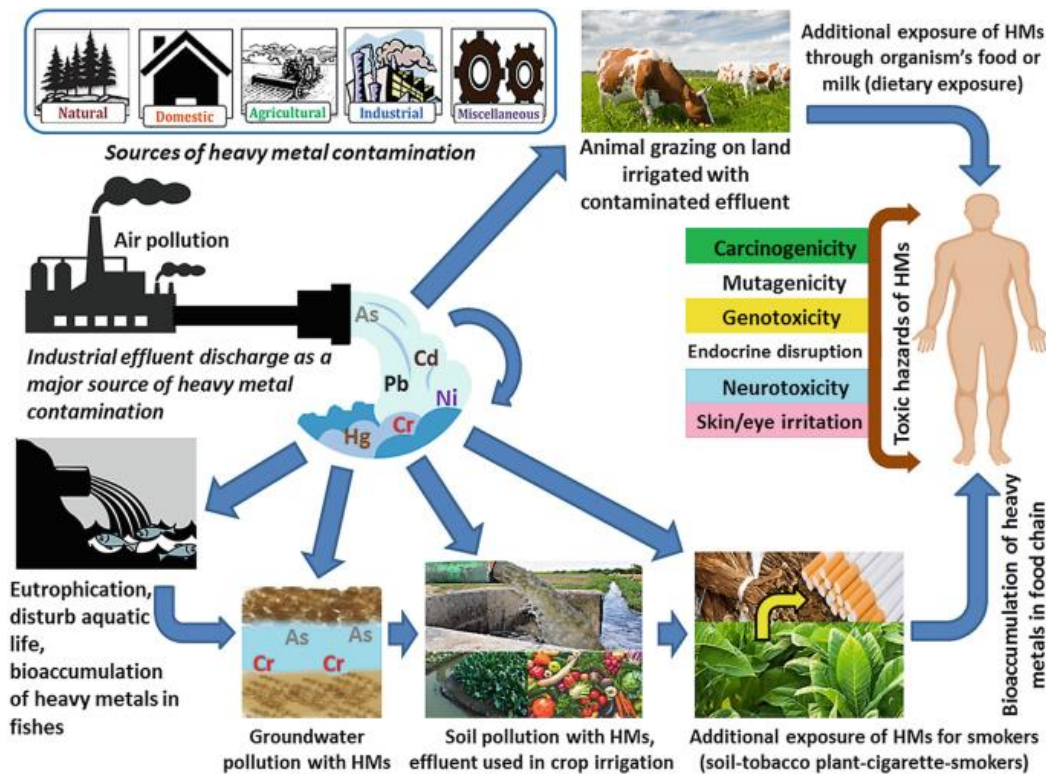


Figure 8 : Eléments traces métalliques : sources et effets toxiques sur les différents partenaires de la chaîne alimentaire (Saxena et al. 2019).

II-3-1-3- Toxicité et effets indirects importants

La toxicité des ETM est due à leur similitude structurale avec les éléments essentiels, leur permettant de les substituer de façon compétitive, notamment dans les macromolécules dont les enzymes (Grison, 2022).

Sur la santé, les pollutions métalliques présentent des risques potentiels sur le système nerveux, rénal, pulmonaire et/ou osseux (Mishra et al. 2019). De fortes teneurs en ETM diminuent la biodiversité, la densité et l'activité de la flore et de la faune. Les animaux sont contaminés par contact, inhalation de poussières métalliques, ingestion d'eau et d'aliments issus de la chaîne alimentaire (Ali and Khan, 2018b).

Les pollutions métalliques conduisent à une phytotoxicité des systèmes sols et, par la suite, à leur érosion accrue. Ces phénomènes réduisent la fertilité des sols et entraînent la contamination des produits agricoles et alimentaires (Ali and Khan, 2018b).

Ces problèmes de pollution associés aux effets cumulés de l'évolution climatique impactent lourdement les ressources vitales et touchent à la sécurité alimentaire et nutritionnelle des populations (Grison, 2022).

II-3-2- Phytoremédiation

II-3-2-1- Définition

Si la bioremédiation repose sur l'utilisation d'espèces bactériennes spécifiques et adaptées à la décontamination de zones contaminées, notamment par les polluants organiques ou métalliques (Sharma et al. 2018 ; Verma and Kuila, 2019), la phytoremédiation est plutôt destinée à la résolution de problèmes environnementaux générés par les éléments traces métalliques (Grison, 2022).

Compte tenu de leur phytotoxicité, les sols métallifères exercent une forte pression de sélection et génèrent des habitats particuliers pour les espèces végétales et les micro-organismes associés. Il en résulte des métalphytes, capables de tolérer des concentrations en ETM, et donc de survivre et se reproduire sur de tels sites (Grison, 2022).

II-3-2-2- Principaux procédés de phytoremédiation

La phytoremédiation est une des rares solutions intéressantes de réhabilitation durable des sols dégradés ou contaminés par les ETM. Les procédés (Fig. 9) les plus connus et les plus étudiés sont (Grison, 2022) :

- La phytoextraction : c'est une écotechnologie de dépollution partielle des sols et des sédiments par accumulation des ETM dans les parties aériennes des végétaux hyper accumulateurs. Ceux-ci sont capables de contenir des taux de 100 mg Kg^{-1} de Cd ou As, 1000 mg Kg^{-1} de Co, Cu, Cr, Pb ou Ni, $10\,000 \text{ mg Kg}^{-1}$ de Mn ou Zn ;
- La phytostabilisation : elle consiste à recouvrir les sols par des espèces végétales capables d'immobiliser les contaminants ;
- La rhizofiltration : le procédé de phytoextraction s'effectue en milieu aquatique au niveau de la rhizosphère.

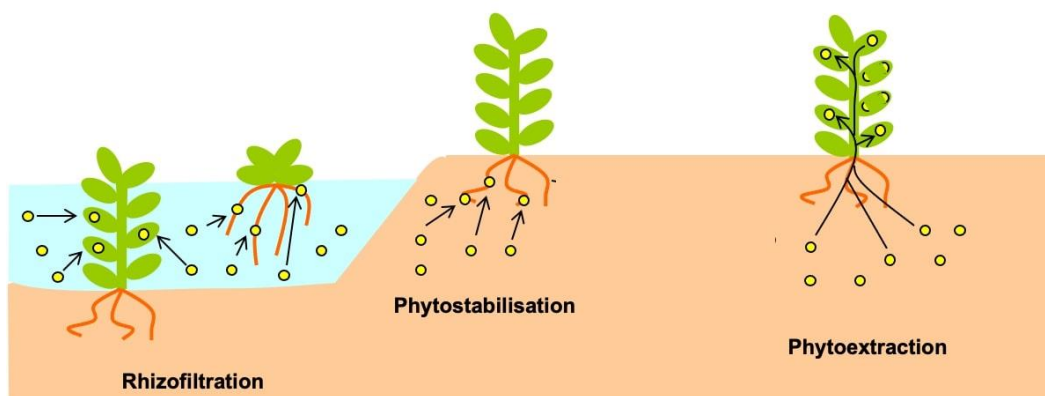


Figure 9 : Comparaison des principales technologies de phytoremédiation (Grison, 2022).

II-3-2-3- Valorisation des phytotechnologies de dépollution

Une valorisation de la phytoextraction, de la rhizofiltration et d'autres technologies de dépollution est développée, on l'appelle l'écocatalyse (Mench et al. 2009 et 2010). Les déchets végétaux générés sont valorisés à travers un concept innovant de recyclage écologique (Fig. 10). Tirant parti de la capacité adaptative remarquable de certains végétaux à bioconcentrer des métaux, l'écocatalyse repose sur l'utilisation des espèces métalliques d'origine végétale comme réactifs et catalyseurs de réactions chimiques organiques fines. Elle permet la préparation de biomolécules selon une approche écoresponsable et bio-inspirée (Grison, 2022).



Figure 10 : Représentation de la valorisation des phytotechnologies de dépollution qui génèrent une biomasse chargée en éléments traces métalliques (Grison, 2022).

II-4- Application au plomb/nickel

Le plomb est l'un des contaminants les plus courants des sols. Il partage environ 10% de la pollution totale produite par les métaux lourds. Il n'a pas d'utilité biologique connue sur les plantes ; bien que son absorption affecte leurs fonctions métaboliques, leur croissance et leur activité photosynthétique. L'accumulation de Pb en excès peut réduire de 42% la croissance des racines (Collin et al. 2022).

Le nickel bien qu'il soit un métal lourd ; il est considéré comme un oligoélément vital pour la croissance et la productivité des plantes. En situation de carence, le Ni peut limiter l'activité de l'uréase, ce qui entraîne une nécrose des extrémités foliaires. Sa concentration moyenne au sein des plantes varie de 0,05 à 10 mg Kg⁻¹, mais des concentrations plus élevées induisent une phytotoxicité, qui se traduit par une réduction de la croissance, de la teneur relative en eau, de l'assimilation photosynthétique, des pigments, de l'activité enzymatique et du contenu en osmolytes (Kumar et al. 2022).

II-4-1- Plomb

II-4-1-1- Effets imposés par le plomb

D'abord pour ce qui est des graines, le tégument empêche l'entrée du plomb dans les tissus internes jusqu'à ce qu'il soit rompu par l'émergence de la radicule. Une fois la barrière tégumentaire levée, le plomb est absorbé très rapidement, avec des exceptions notables dans les régions méristématiques de la radicule et des hypocotyles. Dans les cotylédons, le plomb se déplace à travers les tissus vasculaires et a tendance à s'accumuler dans des zones discrètes des parties distales (**Lane and Martin, 1977**). Avec des concentrations élevées en Pb, les synthèses d'ADN, d'ARN et de protéines enzymatiques (protéases et α -amylase) sont fortement réduites au niveau des axes embryonnaires et de l'endosperme des plantules de 4 jours après la germination des graines de riz (**Mukherji and Maitra, 1977**).

Pour ce qui est des plantes, le plomb est principalement absorbé par le système racinaire, et en partie, en faibles quantités par les feuilles. L'accumulation se fait au niveau racinaire, mais une fraction est transportée vers les parties aériennes (**Tab. I**). Le pH du sol, la taille des particules du sol, la capacité d'échange de cations ainsi que des facteurs propres au végétal tels que la surface racinaire, l'exsudation des racines et le taux de transpiration mycorhizienne affectent la disponibilité et l'absorption du plomb (**Kumar et al. 1995 ; Lee et al. 1998 ; Sharma and Dubey, 2005**).

Tableau I : Contenu en plomb et longueurs des racines et des parties aériennes de plantules de riz cultivés dans du sable pendant 10 et 20 jours en présence de 500 μM et 1000 μM de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (**Verma and Dubey, 2003**).

Age des plantules (jours)	Concentration du Pb (μM)	Longueur (cm)		Contenu en Pb ($\mu\text{mol Pb.g}^{-1}$ poids sec)	
		Racine	Pousse	Racine	Pousse
10 jours	0	8,84	9,23	0	0
	500	6,92	8,84	0,16	0,06
	1000	6,15	6,92	0,72	0,22
20 jours	0	11,92	17,69	0	0
	500	9,23	16,15	0,80	0,38
	1000	6,92	13,84	1,22	0,72

Une translocation limitée du plomb se produit depuis la racine vers d'autres organes en raison de la fonction de barrière imposée par la présence de l'endoderme. Aux concentrations létales, cette barrière est rompue et le flux de Pb atteint les tissus vasculaires (**Verma and**

Dubey, 2003). Des dépôts de plomb de différentes tailles sont détectés dans les espaces intercellulaires, les parois cellulaires et les vacuoles (**Wierzbicka and Antosiewicz, 1993 ; Seregin et al. 2004**). De petits dépôts sont également observés au niveau du réticulum endoplasmique, les dictyosomes et les vésicules élaborées par ces dictyosomes. Ceci est apparemment lié à la sécrétion de ce métal de la surface cellulaire dans la vacuole. Une petite quantité de Pb atteint les noyaux, les chloroplastes et les mitochondries exerçant ainsi des effets toxiques sur ces organites (**Sharma and Dubey, 2005**).

Une fois au niveau cellulaire, le plomb inhibe les activités de nombreuses enzymes, perturbe la nutrition minérale et l'équilibre hydrique, modifie le statut hormonal et affecte la structure de la membrane et sa perméabilité (**Fig. II**). Les symptômes visuels non spécifiques de la toxicité au plomb sont dans ce cas, un retard de croissance, une chlorose et un noircissement du système racinaire (**Burton et al. 1984, Sharma and Dubey, 2005**).

Souvent, l'inhibition des activités enzymatiques dues à la présence du plomb résulte de l'interaction de ce métal exercée sur leurs groupement –SH (sulphydryl). Les activités des métalloenzymes peuvent décliner en raison de la substitution d'un élément essentiel par le plomb au niveau des principaux sites actifs de ces enzymes (**van Assche and Clijsters, 1990 ; Sharma and Dubey, 2005**).

Le contenu protéinique des tissus diminue et la composition glycolipidique, spécialement du MGDG est altérée sous l'effet toxique du plomb (**Stefanov et al. 1995**). Idem pour la photosynthèse qui voit son taux diminuer (**Fig. II**). C'est la conséquence d'une modification de l'ultrastructure du chloroplaste, de la diminution de la synthèse des chlorophylles et des caroténoïdes, de l'entrave exercée sur le transport des électrons le long de la chaîne photosynthétique et de l'inhibition des activités des enzymes du cycle de Calvin (**Hampp et al. 1973 ; Prasad and Prasad, 1987 ; Rashid et al. 1994 ; Stefanov et al. 1995 ; Sharma and Dubey, 2005**).

Aux faibles concentrations, le plomb stimule la respiration et augmente la teneur en ATP. Il pourrait être dû à une demande accrue de production d'ATP par phosphorylation oxydative. Cependant, des concentrations plus élevées en Pb répriment la respiration et diminuent l'ATP (**Romanowska et al. 2002**).

La présence du plomb suffit à déséquilibrer le contenu en minéraux susceptibles d'atteindre les tissus racinaires, notamment pour ce qui des éléments minéraux potassium, calcium, magnésium, manganèse, zinc, cuivre et fer (**Fig. II**). L'effet est provoqué par le blocage physique de leur accès exercé par le plomb au niveau des sites d'absorption racinaires (**Kabata-Pendias and Pendias, 2001 ; Malkowski et al. 2002**).

Le taux de transpiration et la teneur en eau des tissus diminuent en présence de Pb. Ceci est la conséquence d'une réduction de la croissance imposée mêmes aux surfaces foliaires qui

ne se développent que peu. Les cellules de garde sont également de petite taille. Le Pb abaisse aussi le niveau des composés associés au maintien de la turgescence cellulaire et de la plasticité de la paroi diminuant ainsi le potentiel hydrique à l'intérieur de la cellule. Les ions métalliques, y compris le Pb, augmentent la teneur en ABA et induisent la fermeture des stomates (**Fig. 11**) (**Bazzaz et al. 1974 ; Sharma and Dubey, 2005**).

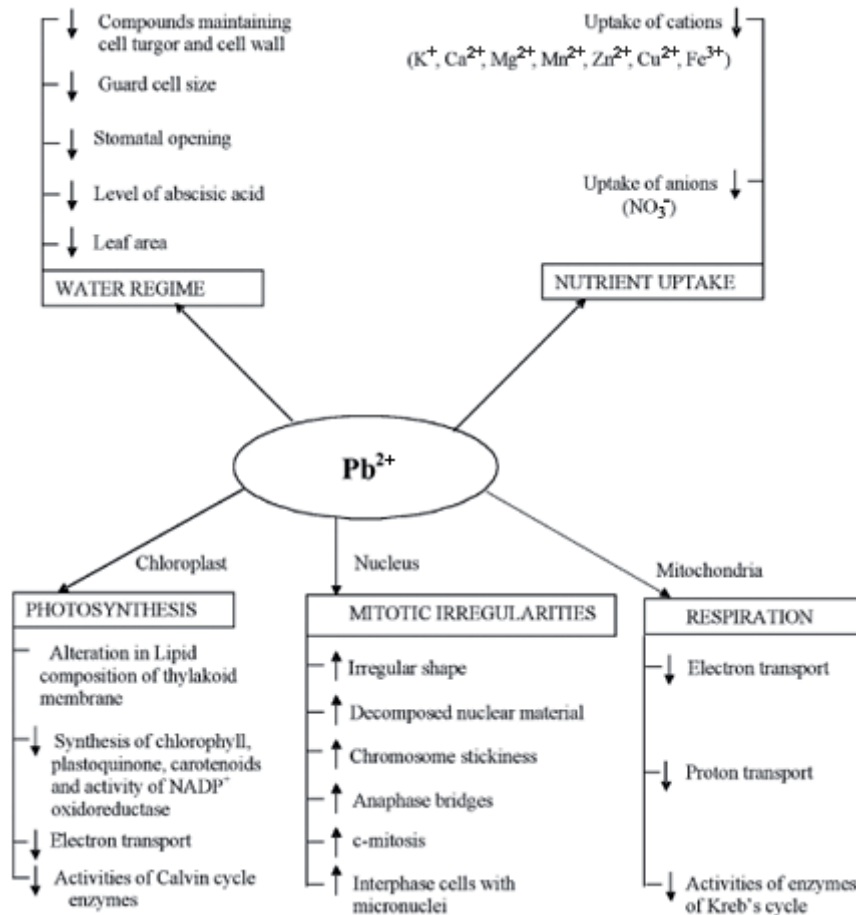


Figure 11 : Effets du plomb sur la photosynthèse, les irrégularités mitotiques, la respiration, le régime hydrique et la nutrition minérale induite par le plomb. Les signes \uparrow et \downarrow indiquent respectivement une augmentation et une diminution des activités (**Sharma and Dubey, 2005**).

L'un des effets phytotoxiques du Pb est l'induction d'un stress oxydatif dans les parties de la plante en croissance en raison d'une production en excès d'espèces réactives de l'oxygène entraînant un état redox déséquilibré (**Verma and Dubey, 2003**). Cet état induit une peroxydation des lipides, une diminution des acides gras saturés et une élévation du contenu en acides gras insaturés au niveau membranaire de plusieurs espèces de plantes. Le Pb accélère de tels faits (**Verma and Dubey, 2003 ; Sharma and Dubey, 2005**).

II-4-1-2- Réponses apportées à la phytotoxicité du plomb

Aux effets toxiques du plomb, les plantes tolérantes apportent en conséquence des réponses qui allient entre l'exclusion, les mécanismes de détoxification et des systèmes de défense non-spécifiques (**Fig. 12**).

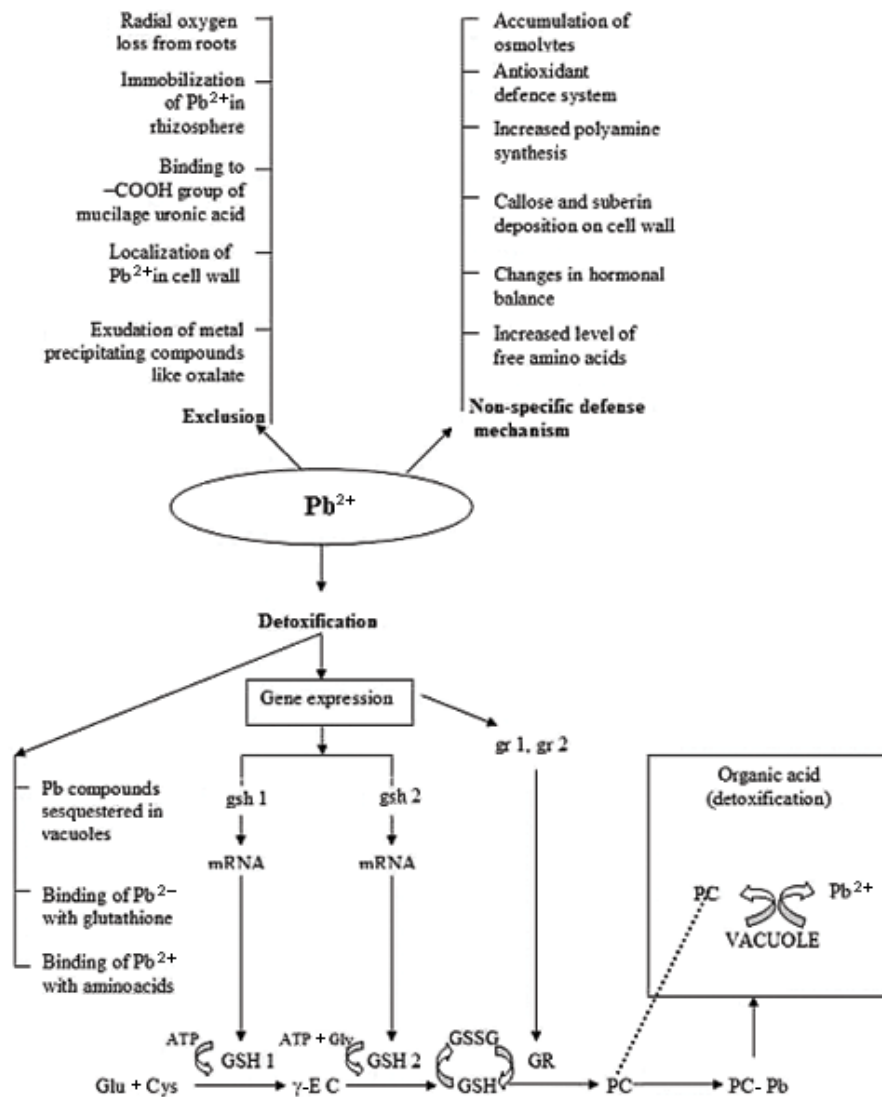


Figure 12 : Les trois modalités de réponse des cellules de plantes aux effets toxiques du plomb : exclusion, détoxification et mécanismes de défense non-spécifiques (**Sharma and Dubey, 2005**).

La capacité d'exclusion du plomb est liée à la capacité de transport de l' O_2 et à la perte radiale de l' O_2 par les racines, ce qui se traduit par une plus grande capacité à modifier et à immobiliser ces métaux au niveau déjà de la rhizosphère (**Ye et al. 1997**). Aussi, il a été observé que des variétés de riz tolérantes régulent la synthèse et la sécrétion de l'oxalate, un composé qui précipite le Pb, réduisant ainsi son absorption par les racines (**Yang et al. 2000**).

La liaison qu'effectue le Pb avec les groupes -COOH des acides uroniques constitutifs du mucilage limite également l'absorption du Pb au niveau racinaire (Morel et al. 1986). Egalement, la liaison du Pb aux groupes carboxyle des glucides associés aux parois cellulaires empêche son transport via l'apoplaste (Fig. 12) (Sharma and Dubey, 2005).

Au niveau cellulaire, les mécanismes de détoxification du Pb comprennent sa séquestration au niveau vacuolaire par formation de complexes, le liant aux phytochélatines (PC), au glutathion (GSH) et aux acides aminés (Fig. 12) (Wierzbica and Antosiewicz, 1993).

La synthèse des phytochélatines résulte de l'activation de la glutamyl cystéine synthétase (GSH1), de la glutathion synthétase (GSH2) et de la glutathion réductase (GR). L'élévation de l'activité de ces enzymes sont corrélées à l'expression accrue de leurs gènes correspondants (gsh1, gsh2, gr1 et gr2) (Fig. 12) (Verma and Dubey, 2003).

Plusieurs systèmes de défense non-spécifiques sont également activés lorsque les plantes sont exposées au Pb. Ces mécanismes comprennent la synthèse d'osmolytes compatibles (proline), des polyamines (putrescine), des changements de composition chimique des parois cellulaires (dépôt de callose et de subérine) et de la balance hormonale (éthylène et ABA) (Seregin and Ivanov, 2001).

II-4-1-3- Phytoremédiation appliquée au plomb

Les technologies de phytoremédiation, comme la phytoextraction ou la rhizofiltration, ont le potentiel de fournir des solutions écologiquement rationnelles et économiquement viables pour débarrasser les sols contaminés par le plomb (Jagetiya and Kumar, 2020).

La phytoextraction nécessite généralement une acidification ou une chélation du sol, ce qui facilite davantage l'absorption du Pb. L'EDTA est un chélateur efficace, mais sa biodégradabilité est limitée. A cet effet et afin de réduire les impacts potentiels sur l'environnement d'une telle utilisation, des chélateurs naturels associés ou non à des régulateurs de la croissance et/ou des solutions nutritives foliaires complètes sont privilégiées dans les études de phytoextraction applicable au Pb (Chen et al. 2022 ; Hart et al. 2022 ; Kafle et al. 2022).

II-4-2- Nickel

II-4-2-1- Effets imposés par le nickel

Le nickel aux concentrations toxiques inhibe la germination des graines et la croissance des semis en raison de la réduction qui se manifeste sur les processus métaboliques, l'élasticité des parois, les divisions cellulaires et les activités des enzymes hydrolytiques (Fig. 13) (Walker et al. 1985 ; Seregin and Kozhevnikova, 2006 ; Hassan et al. 2019).

C'est davantage la croissance des racines que la croissance des parties aériennes qui est inhibée par la présence de Ni toxique (Seregin et al. 2003 ; Alam et al. 2007 ; Gajewska and Sklodowska, 2008).

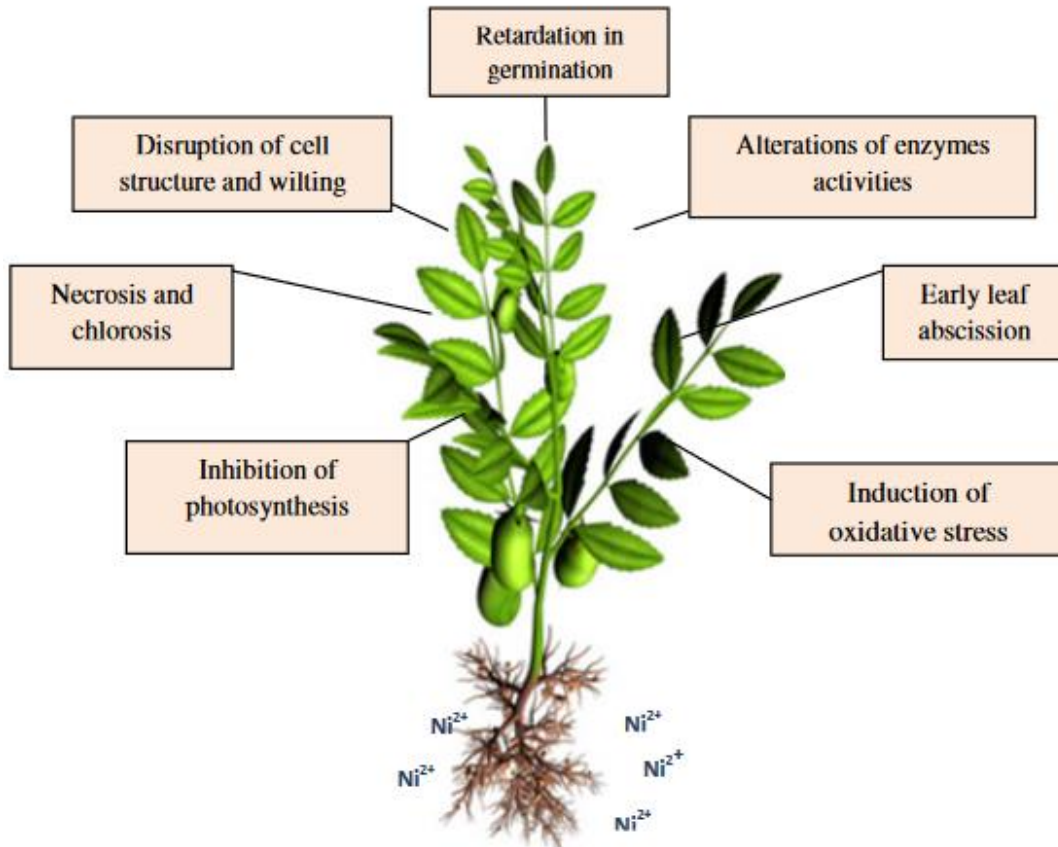


Figure 13 : Effets induits par la phytotoxicité du nickel (Sachan and Lal, 2017a).

En excès, le Ni entre en compétition avec plusieurs nutriments (Fe, Cu, Zn et Mn) et fait diminuer considérablement leur absorption et leur transport chez de nombreuses espèces. Il élimine également le Ca^{2+} des sites de liaison au niveau du complexe dégageant l' O_2 et se substitue aux ions Mg^{2+} au niveau de la chlorophylle (Küpper et al. 1996 ; Yang et al. 1996 ; Boisvert et al. 2007).

En conséquence, plusieurs effets secondaires apparaissent dont une réduction de la croissance et une diminution des activités enzymatiques qui contrôlent la photosynthèse et la transpiration. La carence en Mg^{2+} conduit à la détérioration des chlorophylles entraînant chloroses et nécroses des feuilles (Fig. 13) (Gajewska et al. 2006 ; Seregin and Kozhevnikova, 2006 ; Shukla and Gopal, 2009 ; Sachan and Lal, 2017a ; Hassan et al. 2019).

La photosynthèse est réduite par la présence du Ni en concentrations toxiques. Cette réduction est aussi la conséquence entre autres des effets délétères du Ni sur la structure des chloroplastes, des membranes des thylakoïdes, sur les échanges gazeux via les stomates, sur la chaîne de transport d'électrons, les activités des enzymes du cycle de Calvin et les pigments photosynthétiques (**Fig. 13**) (**Seregin and Kozhevnikova, 2006 ; Hermle et al. 2007 ; Sachan and Lal, 2017a ; Hassan et al. 2019**).

Le Ni en excès perturbe les relations hydriques des plantes en affectant la croissance racinaire, la transpiration, l'ouverture des stomates et la conductivité hydraulique des racines (**Bazihizina et al. 2015 ; Sobkowiak, 2016 ; Hassan et al. 2019**).

La perméabilité membranaire peut diminuer sous stress Ni, conséquence d'une perte d'osmolytes et de la pression de turgescence cellulaire, favorisant de ce fait une fuite d'ions (**Seregin and Kozhevnikova, 2006 ; Hassan et al. 2019**). Des espèces réactives de l'O₂ se forment installant un stress oxydatif, préjudiciable aux systèmes membranaires, aux protéines et aux lipides composant ces membranes (**Fig. 13**) (**Gajewska and Sklodowska, 2007 ; Sachan and Lal, 2017a ; Hassan et al. 2019**). Les systèmes enzymatiques antioxydants, censés piéger ces espèces réactives de l'O₂ sont inopérants en présence de quantités élevées en Ni, amplifiant de ce fait, la peroxydation des lipides et les fuites ioniques (**Wang et al. 2010 ; Hassan et al. 2019 ; Kumar et al. 2022**).

Le Ni en excès induit une réduction du contenu protéinique de nombreuses espèces. Il peut également modifier leur structure, en contractant des liens avec les groupements fonctionnels de ces protéines, notamment les groupements SH (**Gajewska et al. 2006 ; Seregin and Kozhevnikova, 2006**).

Le stress Ni réduit la croissance des racines et des pousses, entraînant une réduction significative de la biomasse fraîche et sèche de ces deux organes. La réduction de production de matière sèche associée au Ni a été liée aux perturbations touchant l'assimilation des nutriments, le métabolisme, les relations hydriques, la photosynthèse, la transpiration et au stress oxydatif qui s'est installé au niveau cellulaire (**Alam et al. 2007 ; Rathor et al. 2014**).

II-4-2-2- Réponses apportées à la phytotoxicité du nickel

Des espèces appartenant aux genres *Assyllum*, *Streptanthus*, *Berkheya* et *Thlaspi* sont connues comme accumulatrices de niveaux élevés en Ni au sein de leurs tissus foliaires. Ces espèces hyper accumulatrices sont tolérantes grâce en partie à la présence de l'histidine libre dans la sève xylémienne, qu'on considère également comme l'un des mécanismes de défense contre les attaques des herbivores (**Sachan and Lal, 2017a & b**).

D'autres potentialités cellulaires s'expriment au sein des plantes afin de tolérer le stress du Ni, qu'on résume ainsi (**Sachan and Lal, 2017a & b ; Ameen et al. 2019**) :

- Restriction de l'accès du Ni vers les racines grâce aux mycorhizes ;
- Faculté du Ni de contracter des liaisons avec les constituants de la paroi cellulaire et avec les exsudats libérés par les racines ;
- Réduction de la possibilité de traverser les membranes plasmiques ;
- Efflux actif au niveau du compartiment apoplastique ;
- Possibilité de chélation dans le cytosol avec différents types de ligands ;
- Activation de systèmes de réparation et mise en place de systèmes protecteurs des membranes plasmiques contre les effets du stress Ni ;
- Transfert du Ni complexé avec des phytochelatines dans les vacuoles ;
- Transport et accumulation du Ni dans les vacuoles ;
- Mise en place de systèmes enzymatiques et non-enzymatiques contre les espèces réactives d'O₂ générées par la présence du Ni en excès.

Les plantes tolérantes sont donc bien équipées avec un système de défense constitutif et/ou inductible pour contrecarrer les effets toxiques du Ni. Il inclue un système d'exclusion/restriction de l'entrée de l'élément métallique (barrières physiques) ; une chélation du métal (phytochelatines, métallothionines et nicotinamide) ; suivi d'une séquestration au niveau des vacuoles pour rendre le Ni moins toxique pour les plantes. Plusieurs composants cellulaires (osmolytes, enzymes, régulateurs) participent activement à la tolérance (**Fig. 14**) (**Sachan and Lal, 2017a**).

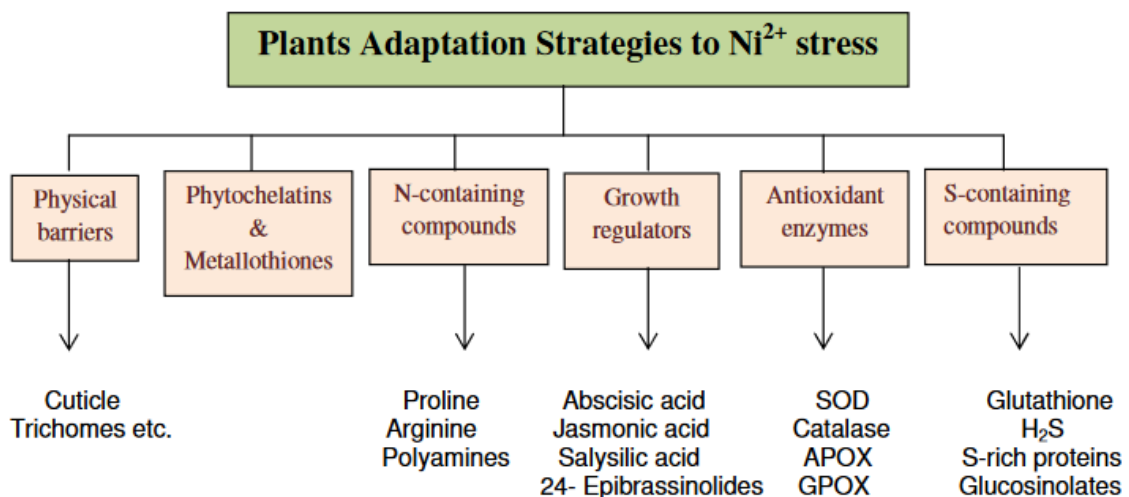


Figure 14 : Stratégies adaptatives développées par les plantes contre la toxicité du nickel (**Sachan and Lal, 2017a**).

II-4-2-3- Phytoremédiation appliquée au nickel

La phytoremédiation est une méthode d'appoint mise en œuvre pour se débarrasser du Ni. Plusieurs stratégies sont envisageables pour débarrasser un sol pollué par des éléments métalliques comme le Ni (Fig. 15) (Sachan and Lal, 2019).

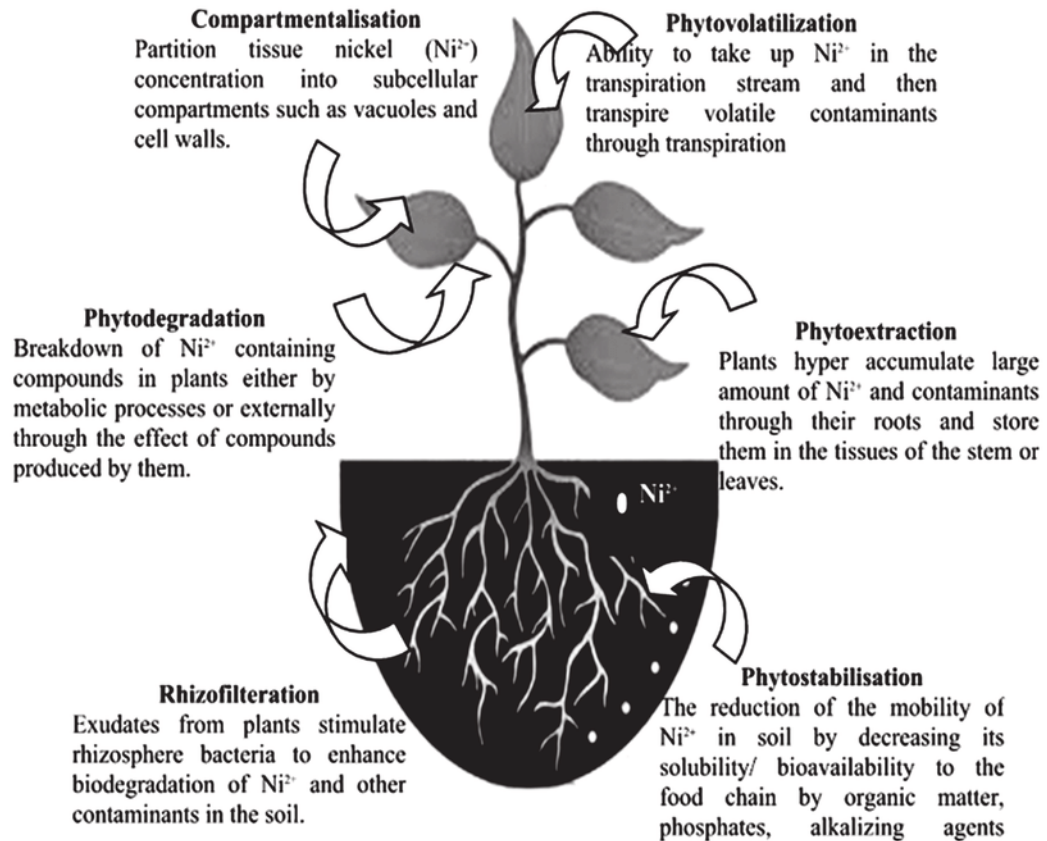


Figure 15 : Multiples mécanismes dans la tolérance, l'hyper accumulation et la phytoremédiation du nickel chez les plantes (Sachan and Lal, 2019).

MATERIEL & METHODES

III- Matériel & Méthodes

III-1- Matériel

Le présent travail a été mené au sein du laboratoire de recherche en écologie et environnement de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia.

Il vise à expérimenter les effets du plomb $[Pb(NO_3)_2]$ et du nickel $[NiSO_4]$ sur le potentiel germinatif des graines et d'en voir les effets sur les premiers stades de la croissance et de développement des plantules de *Marrubium vulgare* L.

III-1-1- Matériel végétal

III-1-1-1- Origine des graines

Les akènes de *Marrubium vulgare* L. ont été récoltés au mois de juillet de l'année 2022 au niveau de la région de Ben Badis, localisée dans la wilaya de Sidi Bel Abbas. Une région du nord-ouest de l'Algérie aux coordonnées géographiques de $34^{\circ} 57' 6''$ N ; $0^{\circ} 54' 50''$ O ; et qui culmine à une altitude de 708 m (**Fig. 16**).

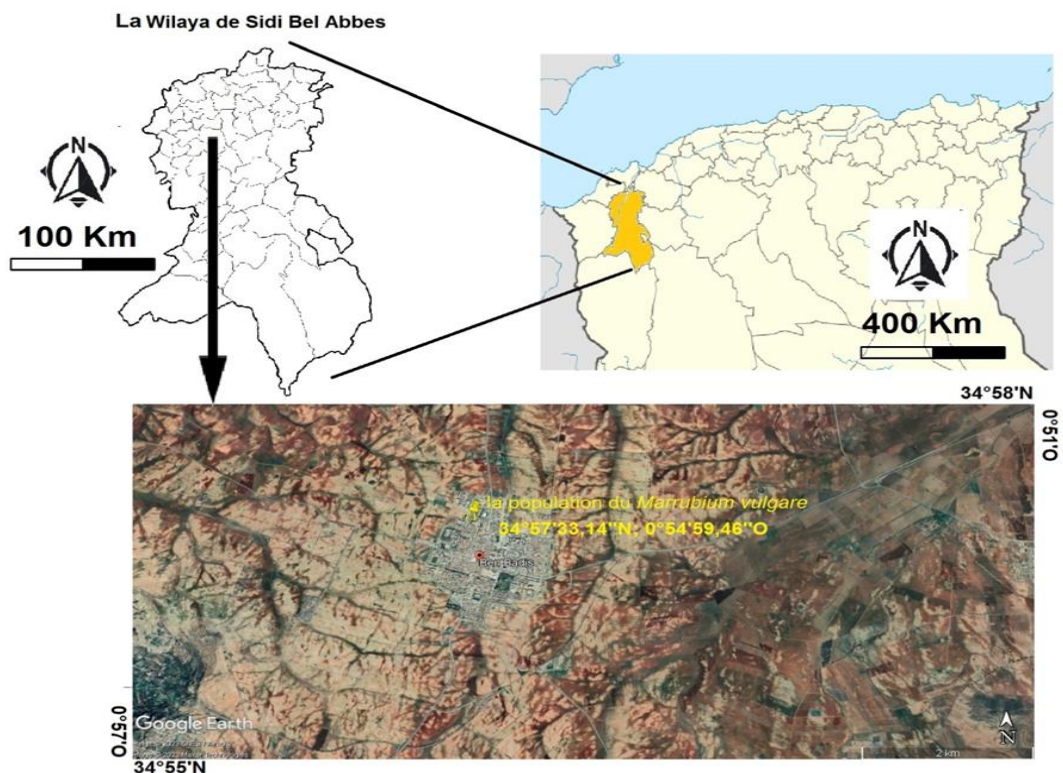


Figure 16 : Positionnement géographique du site de provenance des fruits de *Marrubium vulgare* L. Carte préparée et fournie par **Dadach M. (2023)**.

III-1-1-2- Traitement des graines

Les minuscules graines ont été récupérées depuis leurs akènes et sont stérilisées dans un bécher par un trempage de 10 mn dans une solution d'eau de javel à 10% (v/v). Les graines sont ensuite rincées dans six bains successifs d'eau distillée, puis récupérées à l'aide d'une passoire. Elles sont étalées sur du papier absorbant pour les sécher à température ambiante du laboratoire (**Fig. 17**).



Figure 17 : Opération de désinfection de surface des graines de *Marrubium vulgare* L. par une solution d'eau de javel à 10% (v/v).

III-1-1-3- Mise à germination des graines

Pour germer, les graines de *Marrubium vulgare* L. sont entreposées à raison de 25 graines, dans des boîtes pétri circulaires (9 cm de diamètre ; 15 mm de profondeur), tapissées au préalable de papier absorbant. Ces boîtes au nombre de 39 au total, sont réparties en 3 lots distincts :

- Un 1^{er} lot considéré comme lot témoin, où chacune des boîtes préparées (3 au total) est humidifiée par 7 ml d'eau distillée ;
- Un 2nd lot considéré comme lot traité au plomb (Pb), où l'on verse dans chacune des boîtes préparées 7 ml d'une concentration connue de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (3 boîtes / concentration x 6 concentrations différentes de [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm]) ;
- Un 3^{ème} lot considéré comme lot traité au nickel (Ni), où l'on verse dans chacune des boîtes préparées 7 ml d'une concentration connue de NiSO_4 (3 boîtes / concentration x 6 concentrations différentes de [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm]).

Chacune des boîtes est recouverte de son couvercle, puis scellée par du parafilm pour éviter toute perte d'eau (lot témoin) ou de la solution de traitement (lots traités) durant les 20 jours de la durée du suivi de la germination.

Toutes les boîtes sont entreposées dans une étuve (*Friocell*) à l'obscurité et une température de 22°C.

Chaque 48 h, les graines de *Marrubium vulgare* L. qui germent sont repérées et dénombrées (**Fig. 18**). Le critère adopté est celui de la percée de la radicule, qui se développe à longueur minimale de 2 mm (**Evenari, 1957**).



Figure 18 : Graines de *Marrubium vulgare* L. à différentes phases de germination. De gauche à droite : boîte correspondant au témoin en imbibition (J 2), percée (J 4) et développement (J 10) de la radicule.

Il y a lieu de noter qu'aux dénombrements qui durent jusqu'au 20^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination, est associée des mesures de longueurs des racines effectuée tous les quatre jours.

III-1-1-4- Plantules issues des germinations

Au bout du 20^{ème} jour, les plantules qui se sont développées ont été récupérées et réservées pour : (a) mesurer les longueurs des racines et des axes hypocotylés, (b) déterminer leur teneur en eau et (c) doser leurs protéines.

III-1-1-5- Tests d'acclimatation

Des plantules âgées de 10 jours depuis leur 1^{ère} mise à germination appartenant aux 3 lots sont sélectionnées et plantées en pots en plastique à raison de 4 plantules par pot. Ces pots contenant un mélange argilo-sableux (v/v ; 2/1) sont régulièrement arrosés et laissés durant 6 semaines aux conditions de température et de luminosité de laboratoire.

Les premiers axes feuillés qui se sont développés ont été hebdomadairement mesurés et leur teneur en eau a été déterminée à l'issue de la 6^{ème} semaine depuis leur 1^{er} repiquage en pots.

III-1-2- Préparation des solutions métalliques

III-1-2-1- Solution de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

Le nitrate de plomb est un sel inorganique de plomb et d'acide nitrique, soluble dans de l'eau (**Fig. 19**). Il a été utilisé dans notre travail pour imposer aux graines de *Marrubium vulgare* L., un stress métallique sous sa forme $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (*Panreak*), en solution aux concentrations de [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm].



Formule moléculaire brute : $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

Nom : Nitrate de plomb

Masse molaire : 331,2 g/mol

Masse volumique : 4,53 g/cm³

Température de fusion : 269,85 °C

Etat physique : solide en cristaux blancs

Figure 19 : Présentation du nitrate de plomb en poudre et ses quelques caractéristiques physico-chimiques. Source : [http://fr.wikipedia.org/wiki/Nitrate_de_plomb\(II\)](http://fr.wikipedia.org/wiki/Nitrate_de_plomb(II))

III-1-2-2- Solution de NiSO_4

Le sulfate de nickel utilisé est hexahydraté ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ / *Prolabo*). Il se présente sous l'apparence d'un solide cristallin bleu ou vert-émeraude (**Fig. 20**). Il a été testé sur les graines de *Marrubium vulgare* L. en solution aux concentrations de [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm].



Formule moléculaire brute : $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Nom IUPAC : Sulfate de nickel hexahydraté

Masse molaire : 262,85 g/mol

Densité : 2,07

Solubilité : 100 mg/mL à 20°C

Etat physique : solide en cristaux bleu

Figure 20 : Présentation des cristaux de sulfate de nickel et ses quelques caractéristiques physico-chimiques. Source : [http://fr.wikipedia.org/wiki/Sulfate_de_nickel\(II\)](http://fr.wikipedia.org/wiki/Sulfate_de_nickel(II))

III-2- Méthodes

III-2-1- Méthodes appliquées à la germination

III-2-1-1- Pourcentages cumulés de germination

Les graines germées sont dénombrées tous les 2 jours sur une durée totale de 20 jours. Les pourcentages cumulés moyens de germination sont exprimés selon la relation suivante :

$$\% \text{ cumulés} = \frac{\text{Nombre cumulé de graines germées au jour } j}{\text{Nombre total de graines mises à germer}} \times 100$$

III-2-1-2- Pourcentages finaux de germination

Au terme du 20^{ème} jour du suivi de la germination, les pourcentages finaux de germination ont été déterminés selon la relation suivante (**Doran and Gunn, 1987**) :

$$\% \text{ finaux de germination} = \frac{\text{Nombre total de graines germées}}{\text{Nombre total de graines mises à germer}} \times 100$$

III-2-1-3- Temps moyens de germination

Le temps moyen de germination est déterminé d'après la formule suivante (**Redondo-Gómez et al. 2007**) :

$$\text{Temps moyen de germination (jours)} = \sum (Ni \times Di) / N$$

Où Ni est le nombre de graines germées au jour i ; Di est la période de germination en jours et N est le nombre total de graines germées.

III-2-2- Mesures biométriques

Les parties racinaires en développement ont été mesurées tous les 4 jours depuis de la 1^{ère} mise à germination jusqu'au 20^{ème} jour. Ces mesures ont été réalisées en utilisant un papier millimétré.

La longueur des axes hypocotylés a été également mesurée à l'aide d'un papier millimétré. Cette opération a porté uniquement sur les plantules récupérées 20 jours après la 1^{ère} mise à germination des graines.

La longueur des 1^{ers} axes feuillés qui se sont développés sur les plantules repiquées en pots a fait également objet de mesures à l'aide d'un papier millimétré. Ces mesures ont été réalisées hebdomadairement pendant 6 semaines.

III-2-3- Teneur en eau

La teneur en eau de chacune des plantules a été déterminée au bout du 20^{ème} jour de suivi de la germination. Cette teneur a été déterminée à partir des pesées des poids frais et des poids secs selon la relation suivante :

$$Teneur\ en\ eau\ (en\ \%) = \frac{Poids\ frais - Poids\ sec}{poids\ frais} \times 100$$

Le poids frais par plantule récupérée à l'issue de la germination, a été lu directement à la balance électronique de précision. Le poids sec a été également pesé, mais après une dessiccation de 48 heures au four, réglé au préalable à 65 °C.

C'est ce qui a été adopté pour déterminer les teneurs en eau des seuls premiers axes feuillés qui se sont développés à l'issue des 6 semaines d'acclimatation des plantes en pots.

III-2-4- Extraction et dosage des protéines

III-2-4-1- Principe

Les protéines solubles sont dosées selon la méthode de **Bradford (1976)**. Il s'agit d'un dosage colorimétrique basé sur le changement de la couleur du bleu de Coomassie après liaison (complexation) avec les acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) et les résidus hydrophobes présents dans les protéines.

En milieu acide, la forme anionique du bleu de Coomassie G250 interagit (par des liaisons non covalentes = adsorption) avec les radicaux aromatiques des acides aminés constitutifs des protéines. Sa longueur d'onde maximale d'absorption augmente alors de 465 nm (rouge) à 595 nm (bleu) (**Weckbecker and Cory, 1988**).

III-2-4-2- Extraction

Environ 20 mg de plantules récupérées à l'issue du 20^{ème} jour du suivi de la germination, sont broyées d'abord à sec, puis dans 2 mL de tampon Tris-HCl pH 8,1. Le broyat est centrifugé à 1300 tr/mn pendant 10 mn. Le surnageant récupéré contient les protéines solubles.

III-2-4-3- Dosage

A 500 μL d'extrait protéique, sont ajoutés 3 mL de réactif de Bradford. L'ensemble est homogénéisé au vortex et après une nuit d'incubation à l'obscurité, la lecture des densités optiques se fait au spectrophotomètre (SPECORD 210 – *Analytic Jena Germany*) à une longueur d'onde de 595 nm. L'étalonnage du spectrophotomètre est réalisé par un blanc constitué de 500 μL d'eau distillée et 3 mL de réactif de Bradford.

III-2-4-4- Courbe étalon

La courbe étalon est réalisée à partir d'une solution mère de sérum albumine bovine (BSA) à 1 mg/mL. Les dilutions préparées sont de 50, 100, 150 et 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (**Fig. 21**). Cette courbe servira à déterminer la quantité de protéines solubles présentes dans l'extrait végétal testé. La quantité en protéines représente la moyenne de 3 essais différents pour chacun des lots et pour chacune des concentrations testées et sera exprimée en mg/100 mg de poids sec.

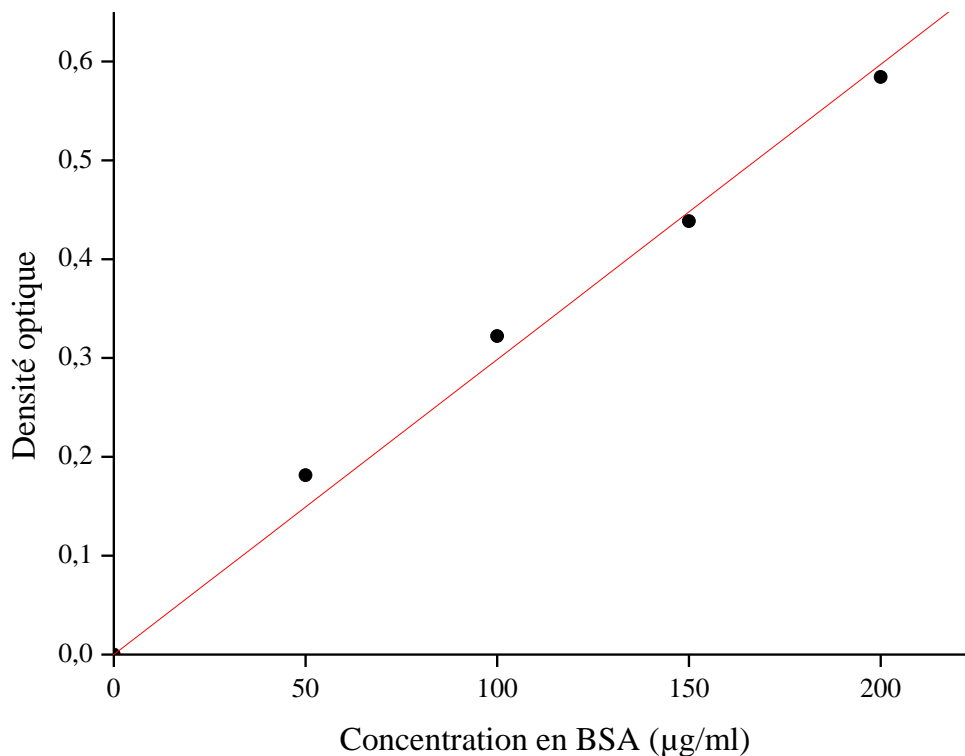


Figure 21 : Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de BSA (sérum albumine bovine) de 1 mg/mL (densité optique lue $\lambda = 595$ nm).

RESULTATS & DISCUSSION

IV- Résultats & Discussion

IV-1- Résultats

IV-1-1- Germination des graines de *Marrubium vulgare* L.

IV-1-1-1- Pourcentages cumulés de germination des graines traitées au $Pb(NO_3)_2$

Aucune des graines de *Marrubium vulgare* L., qu'elles soient témoins ou traitées au Pb, n'arrive à germer au 2nd jour. C'est au 4^{ème} jour en revanche, que l'on enregistre une germination massive des graines des 2 lots : témoins et traités au Pb (**Fig. 22**).

En effet, un maximum de graines témoins germent dès le 4^{ème} jour (84%). Ce % évolue et progresse par paliers d'environ 4% tous les 2 jours, avant d'atteindre 100% de graines germées au 12^{ème} jour (**Fig. 22**).

Les traités au Pb et quel qu'en soit la concentration testée, semblent germer encore mieux que les témoins au 4^{ème} jour (entre 92 - 94%), avant de culminer à hauteur de 98 - 100% au 12^{ème} jour (**Fig. 22**).

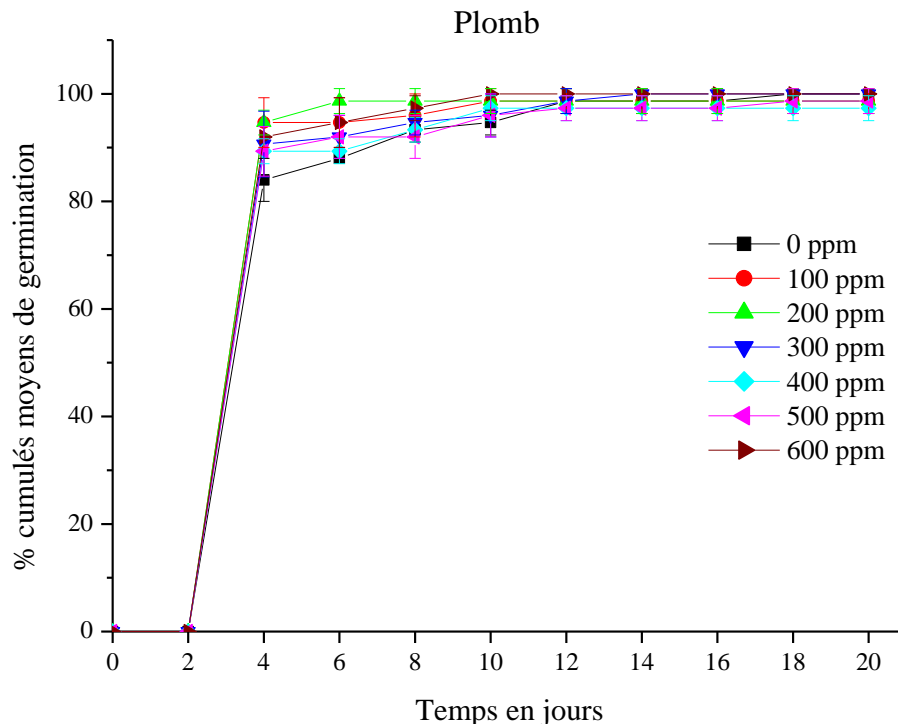


Figure 22 : Evolution des pourcentages cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en $Pb(NO_3)_2$ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en fonction du temps.

IV-1-1-2- Pourcentages cumulés de germination des graines traitées au NiSO₄

La cinétique de la germination représentée par les pourcentages cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. traitées par différentes concentrations en Ni [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] ne diffère pas de celle des graines témoins [0 ppm]. En effet et en tenant compte des écart-types enregistrés, la courbe relative à l'évolution dans le temps de la germination des graines du lot des témoins est de même allure et se confond en tous points avec celles qui concernent le traitement appliqué à différentes concentrations en Ni (**Fig. 23**).

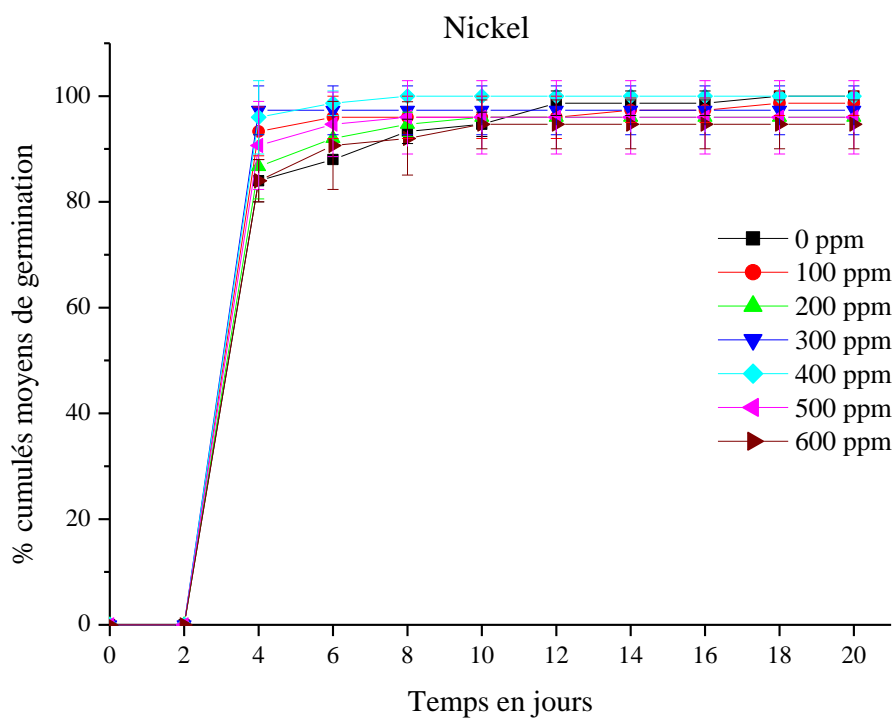


Figure 23 : Evolution des pourcentages cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en NiSO₄ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en fonction du temps.

IV-1-1-3- Pourcentages finaux de germination des graines traitées au Pb(NO₃)₂

Les pourcentages cumulés moyens finaux de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. ont été déterminés au bout du 20^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination des graines témoins [0 ppm] et traitées par les différentes concentrations en Pb [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm].

Les graines non traitées de *Marrubium vulgare* L. germent dans leur totalité. C'est ce que l'on obtient aussi dans le cas du traitement au Pb. L'ensemble des concentrations testées n'entravent pas la germination des graines et donnent en conséquence un pourcentage cumulé moyen final de 100% (**Fig. 24**).

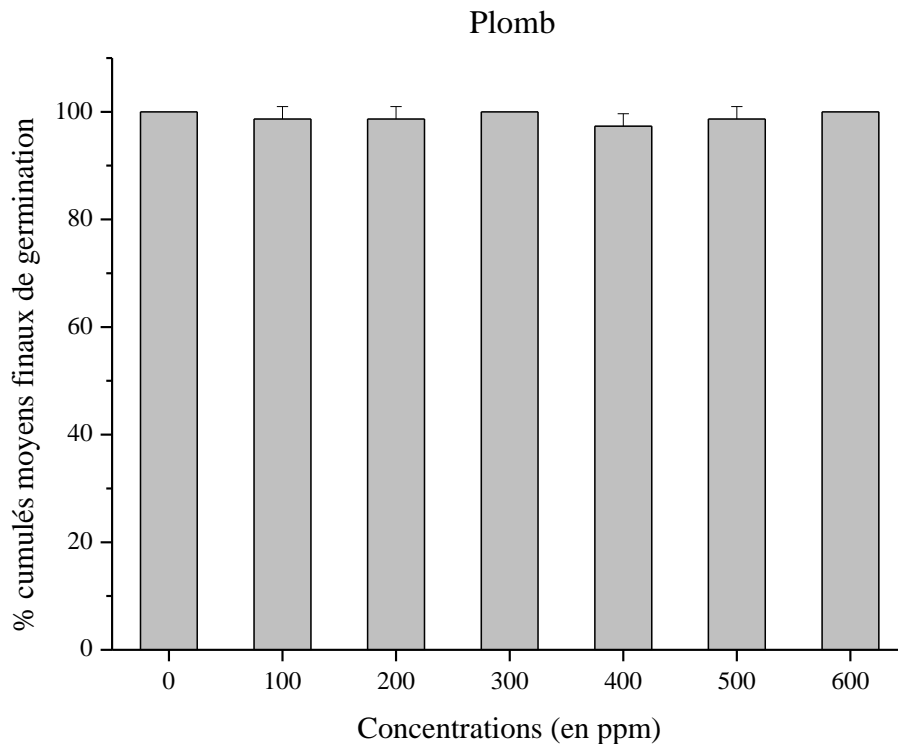


Figure 24 : Effets des différentes concentrations en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] sur les pourcentages cumulés moyens finaux de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm]. Ces pourcentages ont été enregistrés au 20^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 3 essais différents avec calcul de l'écart-type.

IV-1-1-4- Pourcentages finaux de germination des graines traitées au NiSO_4

A l'instar du Pb, le Ni utilisé en solution durant la germination des graines de *Marrubium vulgare* L., n'entrave nullement le processus germinatif de ces graines. Les pourcentages cumulés moyens finaux obtenus au 20^{ème} jour, à l'arrêt des dénombrements, tendent tous vers une valeur absolue de 100% en tenant compte bien évidemment des écart-types enregistrés (**Fig. 25**).

Même la concentration la plus forte en Ni, à savoir [600 ppm], permet d'atteindre au final un pourcentage cumulé moyen très appréciable, de l'ordre de $94,66 \pm 4,61\%$ (**Fig. 25**).

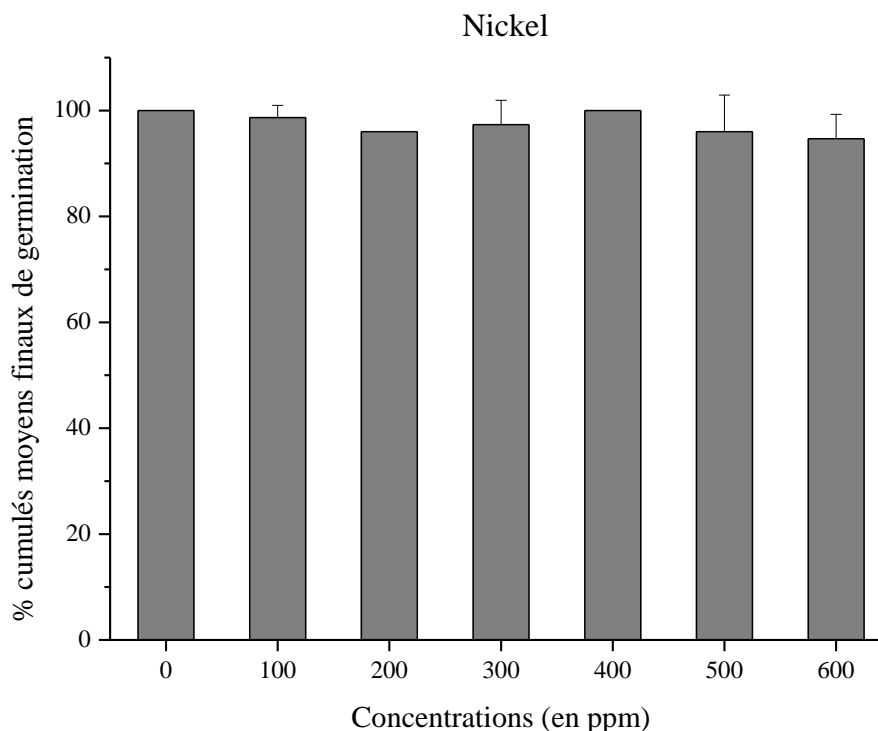


Figure 25 : Effets des différentes concentrations en NiSO_4 [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] sur les pourcentages cumulés moyens finaux de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm]. Ces pourcentages ont été enregistrés au 20^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 3 essais différents avec calcul de l'écart-type.

IV-1-1-5- Temps moyens de germination des graines traitées au $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

La vitesse de déroulement du processus germinatif des graines de *Marrubium vulgare* L. a été déterminée en calculant le temps moyen de germination nécessaire pour la germination de ce type de graines.

Un temps moyen de germination estimé à $4,64 \pm 0,24$ jours a été nécessaire pour la germination des graines témoins, non traitées par aucun agent métallique (**Fig. 26**).

Contre toute attente, ce temps diminue lorsqu'on traite les graines avec les concentrations de [100 et 200 ppm]. En effet, le temps moyen de germination enregistré diminue une première fois à $4,21 \pm 0,20$ jours pour la concentration de [100 ppm], puis diminue une seconde fois à $4,08 \pm 0,08$ jours pour la concentration de [200 ppm] (**Fig. 26**).

Au-delà, les concentrations allant de [300 à 600 ppm] font augmenter de nouveau ce temps moyen de germination, retrouvant plus ou moins celui propre aux graines témoins (**Fig. 26**).

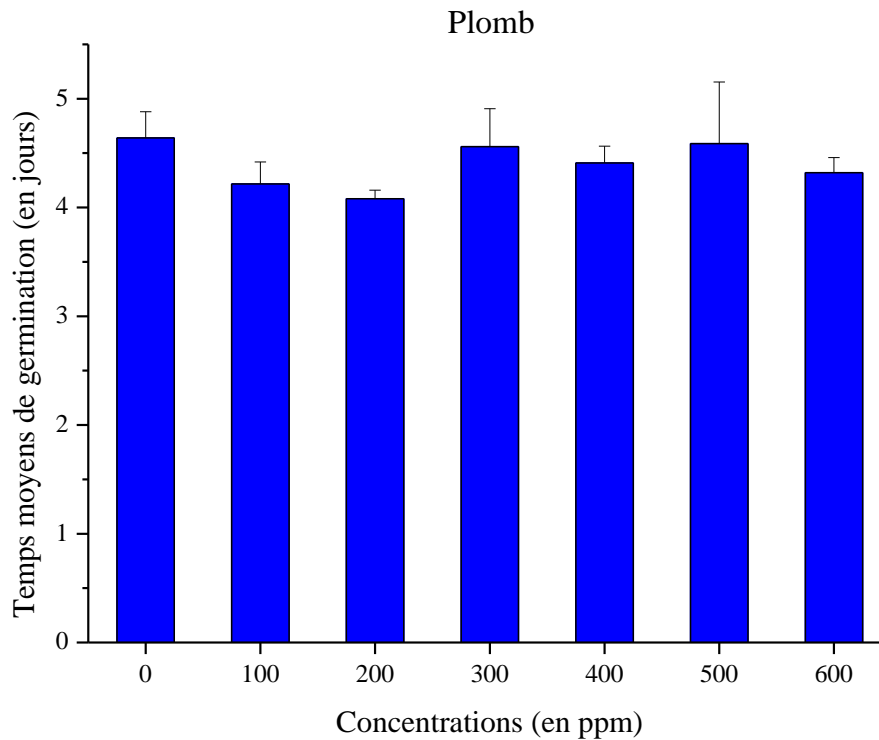


Figure 26 : Effets des différentes concentrations en $Pb(NO_3)_2$ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] sur les temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm]. Ces temps représentent une valeur moyenne de 3 essais différents avec calcul de l'écart-type.

IV-1-1-6- Temps moyens de germination des graines traitées au $NiSO_4$

Si le temps moyen de germination des graines témoins de *Marrubium vulgare* L. est de $4,64 \pm 0,24$ jours ; il passe à $4,37 \pm 0,57$ jours lorsqu'on applique du Ni à la concentration de [100 ppm]. Ce n'est pas pour autant qu'il diminue, lorsqu'on considère les écart-types obtenus par ces 2 types d'échantillons considérés (**Fig. 27**).

Cependant, la diminution de ce temps moyen de germination est amorcée avec des applications plus importantes en Ni. Ainsi, ce temps diminue à $4,30 \pm 0,17$ jours lorsqu'on porte la concentration du Ni à [200 ppm], puis à $4,02 \pm 0,04$ jours lorsqu'on augmente à [300 ppm] la concentration du Ni utilisée dans le milieu de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. (**Fig. 27**).

Les concentrations de [400, 500 et 600 ppm] maintiennent les niveaux des temps moyens de germination aux mêmes niveaux que ce qui a été observé comme temps moyen de germination pour une application en Ni de [300 ppm] (**Fig. 27**).

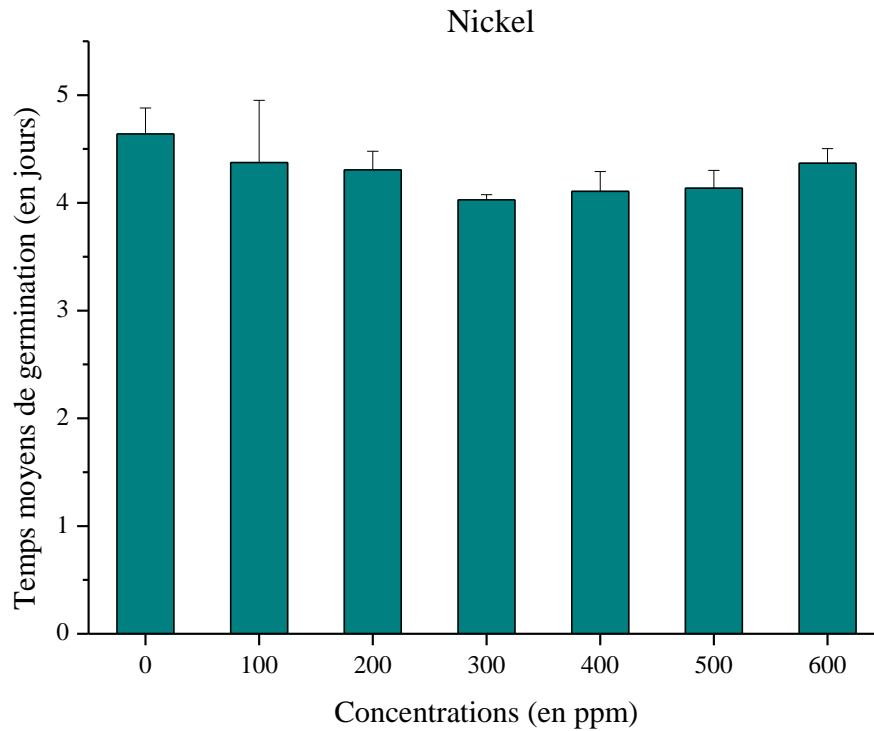


Figure 27 : Effets des différentes concentrations en NiSO₄ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] sur les temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm]. Ces temps représentent une valeur moyenne de 3 essais différents avec calcul de l'écart-type.

IV-1-1-7- Effets sur la germination des traitements au plomb vs nickel

La cinétique de la germination des graines de *Marrubium vulgare* L. a été étalée sur une vingtaine de jours. Seulement, aucune graine des lots témoins ou bien des traités par le plomb ou par le nickel n'arrive à germer avant le second jour. Un temps de latence étant donc nécessaire pour déclencher la germination des graines du marrube. Il est de deux jours au minimum (**Fig. 22 et 23**).

Les germinations se déroulent donc plutôt entre le second et le quatrième jour, avec un nombre considérable de graines qui arrivent à germer en développant au minimum une longueur radiculaire apparente de 2 mm (**Fig. 22 et 23**).

A ce quatrième jour, la germination semble être stimulée par le traitement métallique, qu'il soit par le Pb ou par le Ni, et ce quel que soit la concentration appliquée. Toutes les courbes de germination se rejoignent en ce point précis et amorcent le plateau propre aux courbes de germination qui adoptent le profil sigmoïde. Ceci confirme qu'un maximum de germination

est atteint dès le quatrième jour après le nécessaire temps de latence. Les quelques graines restantes qui n'ont pas encore germés, surmontent la contrainte métallique imposée et arrivent à germer aux jours suivants (**Fig. 22 et 23**).

A la fin des dénombrements, la capacité germinative au final des graines du marrube n'a pas été donc entravée par les 2 types de contrainte métallique appliquées. Les pourcentages cumulés moyens obtenus à l'issue du suivi de la germination dépassent 94% (**Fig. 24 et 25 ; Tab. 2**).

Le rapport Pb / Ni est de 1 et ne change pas lorsqu'on applique le stress métallique même aux concentrations les plus élevées. Ceci indique que les effets du Pb et du Ni sont similaires sur le pouvoir germinatif au final des graines de *Marrubium vulgare* L. (**Tab. 2**).

Tableau 2 : Pourcentages cumulés moyens finaux enregistrés au 20^{ème} jour du suivi de la germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en Pb et Ni.

	Témoins	100 ppm	200 ppm	300 ppm	400 ppm	500 ppm	600 ppm
<i>Pb(NO₃)₂</i>	100%	98,6±2,3	98,6±2,3	100±0,0	97,3±2,3	98,6±2,3	100±0,0
<i>NiSO₄</i>		98,6±2,3	96,0±0,0	97,3±3,6	100±0,0	96,0±3,9	94,6±4,6
<i>Pb / Ni</i>	1	1,0	1,02	1,02	0,97	1,02	1,05

Considérant le rapport Pb / Ni déduit des temps moyens de germination des graines traitées de *Marrubium vulgare* L., on constate qu'il tourne autour de la valeur 1, et ce pour l'ensemble des concentrations testées. Ceci indique que sur le plan germinatif, le Ni agit au même titre que le Pb sur la vitesse de germination des graines de marrube (**Tab. 3**).

Tableau 3 : Temps moyens de germination (en jours) des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en Pb et Ni.

	Témoins	100 ppm	200 ppm	300 ppm	400 ppm	500 ppm	600 ppm
<i>Pb(NO₃)₂</i>	4,64±0,2	4,21±0,2	4,08±0,1	4,56±0,3	4,40±0,1	4,58±0,5	4,32±0,1
<i>NiSO₄</i>		4,37±0,6	4,30±0,2	4,02±0,1	4,10±0,2	4,13±0,2	4,36±0,1
<i>Pb / Ni</i>	1	0,96	0,94	1,13	1,07	1,10	0,99

IV-1-2- Cinétique de la longueur racinaire au cours de la germination

Durant la vingtaine de jours où les graines étaient en germination, les longueurs racinaires qui émergent des téguments ont été mesurées tous les 4 jours chez les témoins et les traités.

IV-1-2-1- Longueur racinaire des traités au Pb(NO₃)₂

La longueur racinaire des plantules témoins [0 ppm] passe de $7,20 \pm 0,7$ mm au 4^{ème} jour à $39,83 \pm 3,6$ mm au 12^{ème} jour. Cette progression de 82% est ralentie entre le 12^{ème} et le 20^{ème} jour. En effet, la longueur racinaire ne progresse que de $39,83 \pm 3,6$ mm au 12^{ème} jour à $46,26 \pm 2,8$ mm au 20^{ème} jour, soit une progression de 14% seulement (**Fig. 28**).

Les longueurs racinaires des plantules dont les graines ont été traitées par une concentration de [100 ppm] en Pb évoluent de la même façon que ce qui a été observé précédemment dans le cas des témoins. En effet, en tous points les mesures effectuées sont confondues (**Fig. 28**).

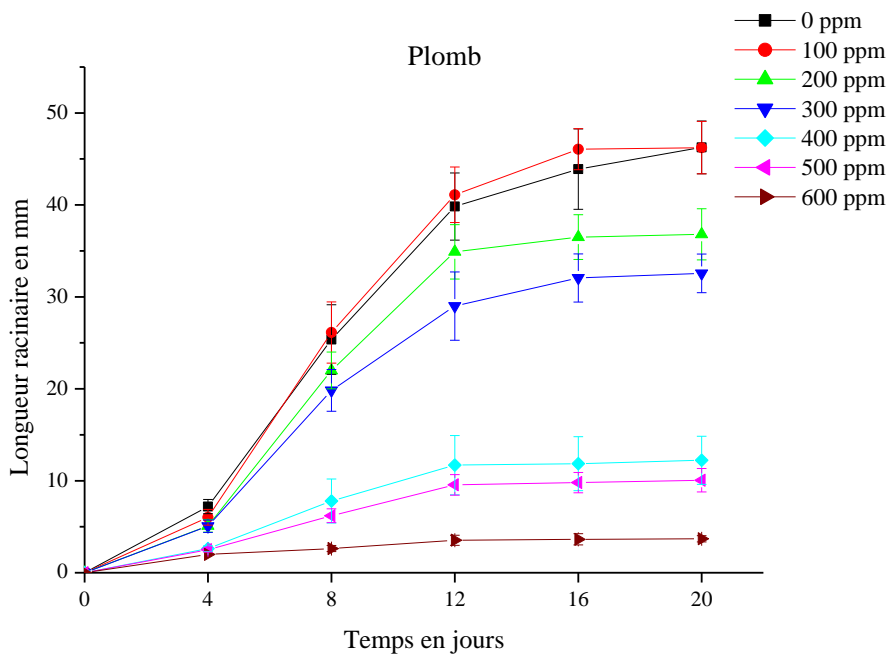


Figure 28 : Evolution des longueurs racinaires moyennes des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations en Pb(NO₃)₂ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en fonction du temps.

C'est le cas aussi pour les concentrations de [200 et 300 ppm], du moins pour la période allant du 4^{ème} au 12^{ème} jour, où les mesures effectuées se confondent plus ou moins avec celle des témoins. Cependant, durant la période s'étalant du 12^{ème} au 20^{ème} jour, l'évolution des

longueurs racinaires est moindre que celle des témoins et des traités avec la concentration précédente de [100 ppm]. Néanmoins, les longueurs racinaires atteignent au 20^{ème} jour des longueurs appréciables, de $36,80 \pm 2,7$ mm pour l'application en Pb de [200 ppm] et $32,56 \pm 2,1$ mm pour l'application en Pb de [300 ppm] (**Fig. 28**).

En utilisant du Pb aux concentrations de [400, 500 et 600 ppm], les effets négatifs sur l'évolution des longueurs racinaires sont plus qu'apparents. En effet, les longueurs racinaires mesurées pour les 2 premières concentrations citées, atteignent difficilement une longueur moyenne de près de 12 mm pendant la phase s'étalant du 4^{ème} au 12^{ème} jour, puis finissent par ne plus évoluer sinon très peu, durant la phase s'étalant du 12^{ème} au 20^{ème} jour. La concentration de [600 ppm] se révèle plus préjudiciable à la croissance racinaire, puisque les longueurs enregistrées pour ce traitement ne dépassent pas 4 mm au 20^{ème} jour (**Fig. 28**).

IV-1-2-2- Longueur racinaire des traités au NiSO₄

Hormis la concentration de [100 ppm], toutes les autres concentrations en Ni testées sur les graines du *Marrubium vulgare* L. n'assurent aucune croissance de la racine qui pourtant émerge depuis les téguments, au moins d'une longueur minimale de 2 mm (**Fig. 29**).

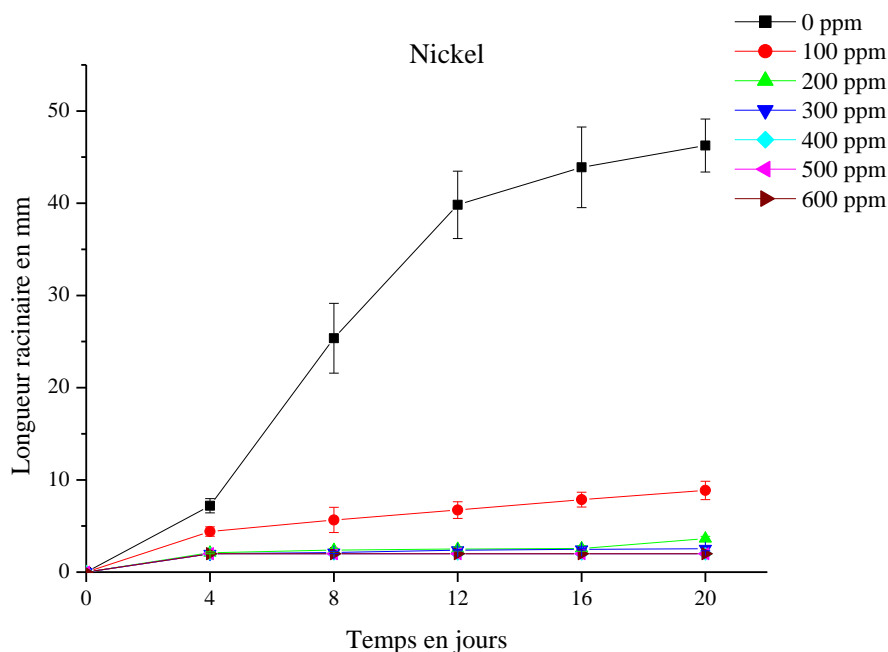


Figure 29 : Evolution des longueurs racinaires moyennes des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations en NiSO₄ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en fonction du temps.

Même, la concentration de [100 ppm] en Ni, ne permet pas pour autant une croissance plus importante de la partie racinaire, puisque l'évolution est insignifiante entre le 4^{ème} et le 12^{ème} jour (34,6%), encore moins entre le 12^{ème} et le 20^{ème} jour (24,0%) (**Fig. 29**). Aussi, il y a lieu de noter que le traitement au Ni induit rapidement des brunissements des racines apparues.

IV-1-2-3- Effets sur la longueur racinaire des traitements au plomb vs nickel

Le Pb qui n'a pas empêché la germination des graines, réduit l'allongement de la partie racinaire. Cette réduction est d'autant plus grande, lorsque on prolonge dans le temps la durée du traitement (du 12^{ème} au 20^{ème} jour) et lorsque on augmente la concentration de ce traitement (**Fig. 28**). Dans le cas du Ni, les différents traitements n'ont pas également empêchés la germination, par contre l'allongement racinaire est inhibée, notamment pour les concentrations de [200 à 600 ppm] (**Fig. 28**).

Tableau 4 : Rapport Pb / Ni déduit des mesures des longueurs racinaires moyennes des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines traitées par différentes concentrations [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en Pb(NO₃)₂ et en NiSO₄ en fonction du temps (4^{ème}, 12^{ème} et 20^{ème} jour).

Rapport Pb / Ni relatif aux mesures des longueurs racinaires

	4 ^{ème} jour	12 ^{ème} jour	20 ^{ème} jour
[100 ppm]	1,37	6,10	5,21
[200 ppm]	2,42	13,96	10,13
[300 ppm]	2,53	12,18	12,86
[400 ppm]	1,31	5,85	6,11
[500 ppm]	1,25	4,78	5,03
[600 ppm]	1,00	1,76	1,84

Au 4^{ème} jour, la racicule émerge normalement pour le traitement de [100 ppm] au Pb, un peu moins pour la même concentration en Ni, au point où le rapport Pb / Ni est de 1,37. Il évolue vite à 2,42 et 2,53 lorsqu'on porte les concentrations respectivement à [200 et 300 ppm]. L'effet inhibiteur du Ni s'installe donc dès lors que l'on utilise ces deux concentrations, ce qui n'a pas été le cas pour le Pb, qui n'a pas empêché l'allongement racinaire. Par contre, aux concentrations de [400 ppm] et plus, l'effet inhibiteur des 2 traitements métalliques se répercute sur l'allongement des racines, au point où le rapport Pb / Ni tend vers 1 (**Tab. 4**).

Cette tendance se maintient au 12^{ème} jour et au 20^{ème} jour. Le rapport Pb / Ni évolue du simple au double lorsqu'on passe d'un traitement de [100 ppm] à un traitement de [200 ou bien 300 ppm], avant de revenir à des valeurs plus ou moins initiales lorsqu'on porte les concentrations à [400 et 500 ppm] (**Tab. 4**).

IV-1-3- Longueur des axes hypocotylés

En plus des longueurs racinaires (**Fig. 28 et 29**), les axes hypocotylés des plantules de *Marrubium vulgare* L. ont été mesurés au 20^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination des graines témoins et traitées par le Pb ou le Ni aux différentes concentrations.

IV-1-3-1- Longueur des axes hypocotylés des traités au Pb(NO₃)₂

L'axe hypocotylé moyen des plantules témoins est de $29,0 \pm 4,9$ mm. Celui des plantules issues d'un traitement au préalable au Pb diminue en fonction de la concentration stressante appliquée aux graines (**Fig. 30**).

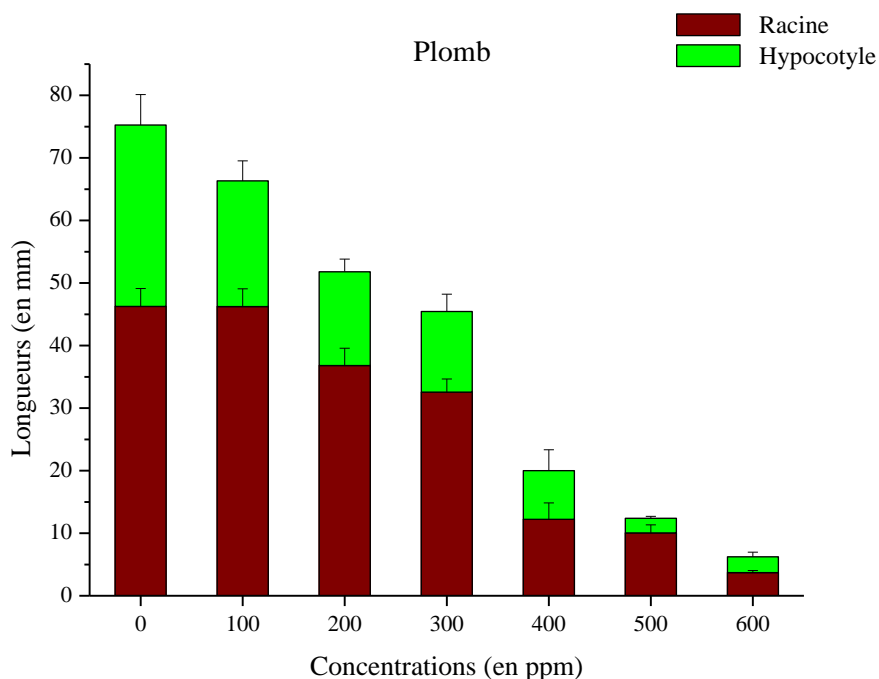


Figure 30 : Effets des différentes concentrations en Pb(NO₃)₂ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] sur les longueurs des axes hypocotylés, en sus des longueurs racinaires, des plantules de *Marrubium vulgare* L. Les mesures ont été réalisées au 20^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 9 mesures différentes \pm intervalle de confiance.

Par rapport au témoin, les diminutions sont de 30,6% pour une application en Pb de [100 ppm] ; de 48,2% pour une application en Pb de [200 ppm] ; de 55,5% pour une application en Pb de [300 ppm] et de 73,2% pour une application en Pb de [400 ppm]. Les deux concentrations les plus élevées de [500 et 600 ppm] réduisent ces axes de près de 92% par rapport au témoin (**Fig. 30**).

IV-1-3-2- Longueur des axes hypocotylés des traités au NiSO₄

L'axe hypocotylé moyen des plantules issues d'un traitement préalable des graines du marrube avec une concentration de [100 ppm] en Ni, ne mesure que $3,88 \pm 0,9$ mm, très loin (86,6%) de la longueur moyenne enregistrée chez les plantules témoins ($29,0 \pm 4,9$ mm). En appliquant les autres concentrations de [200 à 600 ppm], les longueurs de ces axes ne dépassent pas dans le meilleur des cas une longueur de 2 mm, diminuant de ce fait de plus de 93% par rapport au témoin (**Fig. 31**).

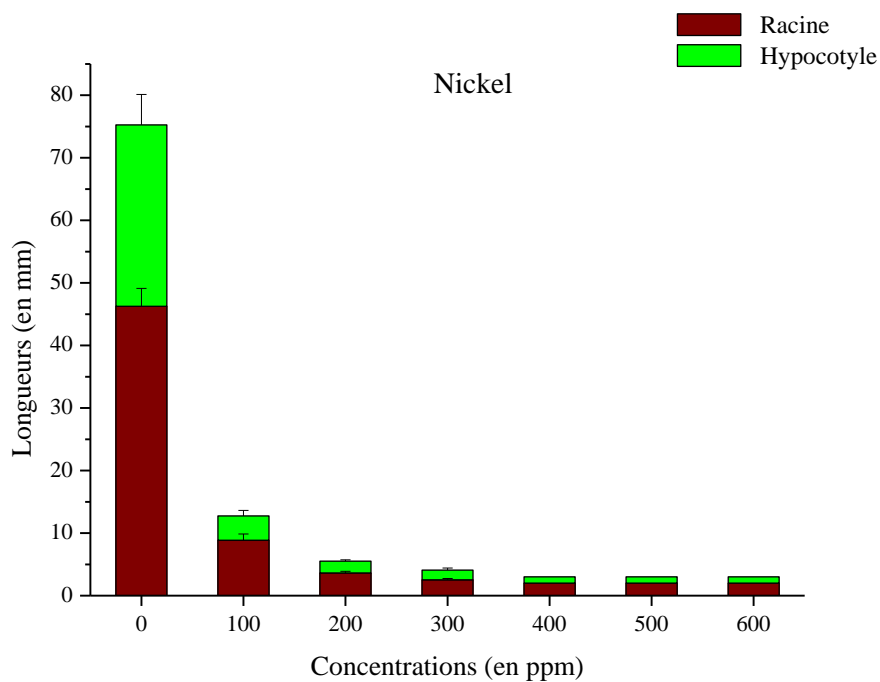


Figure 31 : Effets des différentes concentrations en NiSO₄ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] sur les longueurs des axes hypocotylés, en sus des longueurs racinaires, des plantules de *Marrubium vulgare* L. Les mesures ont été réalisées au 20^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 9 mesures différentes \pm intervalle de confiance.

IV-1-3-3- Effets sur la longueur des hypocotyles des traitements au plomb vs nickel

Avec les observations déjà rapportées par rapport aux longueurs racinaires, les longueurs des axes hypocotylés n'évoluent pas également autant que les témoins, lorsqu'on traite les graines avec du Pb (**Fig. 30**) encore moins avec le Ni, qui présente un effet plutôt inhibiteur (**Fig. 31**). La réduction constatée dans le cas du traitement au Pb étant fonction de la concentration utilisée (**Fig. 30**).

C'est ce qui est résumé par le rapport Pb / Ni, où la concentration de [100 ppm] montre des axes hypocotylés plus longs de 5 fois chez les traités au Pb que chez les traités au Ni. Cette différence est portée à 8 fois lorsqu'on applique des concentrations de [200, 300 et 400 ppm]. Les concentrations de [500 et 600 ppm] portent atteintes à l'élongation des axes hypocotylés avec le traitement qu'il soit du Pb ou du Ni, puisque le rapport diminue à hauteur de 2,4 (**Tab. 5**).

Tableau 5 : Rapport Pb / Ni et longueurs des axes hypocotylés des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées (témoins) et des graines traitées par différentes concentrations [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en Pb(NO₃)₂ et en NiSO₄. Les mesures ont été réalisées au 20^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination et représentent une valeur moyenne de 9 mesures différentes ± intervalle de confiance.

	Témoins	100 ppm	200 ppm	300 ppm	400 ppm	500 ppm	600 ppm
Pb(NO ₃) ₂	29,0±4,9	20,1±3,2	15,0±2,0	12,9±2,8	7,8±3,3	2,3±0,3	2,5±0,7
NiSO ₄		3,9±0,9	1,9±0,2	1,5±0,3	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0
Pb / Ni	1	5,18	7,97	8,30	7,77	2,33	2,55

Si on reconsidère en même temps, les mesures effectuées sur les parties racinaires plus leurs axes hypocotylés correspondants, les plantules issues des graines traitées se montrent globalement moins longues que les témoins. Aussi, le traitement au Pb dont l'inhibition de l'allongement est fonction de la concentration appliquée, se révèle moins inhibiteur que le traitement au Ni (**Tab. 6**).

En effet, le rapport Pb / Ni appliqué aux plantes en entier qui se sont développées à l'issue du 20^{ème} jour augmente de 5,2 pour une application de [100 ppm] à 9,4 pour une application de [200 ppm], puis à 11,1 pour une application de [300 ppm]. Les fortes concentrations de [400, 500 et 600 ppm] font diminuer en revanche ce rapport (**Tab. 6**).

Tout indique que les conséquences d'une application du Pb se répercute négativement sur la croissance des futures plantules lorsqu'on dépasse la concentration de [300 ppm]. Le Ni a des effets inhibiteurs dès une application de [100 ppm] (**Tab. 6**).

Tableau 6 : Rapport Pb / Ni et longueurs des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées (témoins) et des graines traitées par différentes concentrations [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en $Pb(NO_3)_2$ et en $NiSO_4$. Les mesures ont porté sur les longueurs racinaires qu'on a additionnées aux longueurs des axes hypocotylés.

	Témoins	100 ppm	200 ppm	300 ppm	400 ppm	500 ppm	600 ppm
$Pb(NO_3)_2$	75,2±7,7	66,3±6,0	51,8±4,8	45,4±4,9	20,0±5,9	12,4±1,6	6,2±1,1
$NiSO_4$		12,7±1,9	5,5±0,5	4,1±0,6	3,0±0,0	3,0±0,0	3,0±0,0
Pb / Ni	1	5,20	9,40	11,13	6,66	4,13	2,08

IV-1-4- Contenu en protéines

Les protéines des plantules de *Marrubium vulgare* L. ont été dosées au 20^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination. Elles ont été rapportées en mg/100 mg de poids sec.

IV-1-4-1- Protéines des traités au $Pb(NO_3)_2$

Les plantules témoins se caractérisent par un contenu protéinique de $10,11 \pm 0,43$ mg/100 mg de poids sec. Celles issues des traitements au Pb de [100 et 200 ppm] diffèrent peu des témoins, puisque les contenus protéiniques dosés sont respectivement de $11,98 \pm 0,79$ et de $11,71 \pm 0,86$ mg/100 mg de poids sec.

En augmentant la concentration du traitement au Pb appliqué au préalable aux graines, le contenu protéinique des plantules qui en sont issues diminue. Ainsi, ce contenu passe à $6,86 \pm 0,72$ mg/100 mg de poids sec pour une application en Pb de [300 ppm] et $6,16 \pm 0,89$ mg/100 mg de poids sec pour une application en Pb de [400 ppm].

Cette diminution est sensiblement la même lorsqu'on porte les concentrations du Pb appliqué à [500 et 600 ppm]. Effectivement, le contenu protéinique n'est que de $5,64 \pm 0,78$ mg/100 mg de poids sec pour une application en Pb de [500 ppm] et de $5,31 \pm 0,60$ mg/100 mg de poids sec pour une application en Pb de [600 ppm] (**Fig. 32**).

En clair, les 2 concentrations de [100 et 200 ppm] situent le contenu protéinique au même niveau que celui des témoins. Celui propre aux concentrations de [300, 400, 500 et 600 ppm] fait diminuer le contenu protéinique de moitié par rapport au témoin (**Fig. 32**).

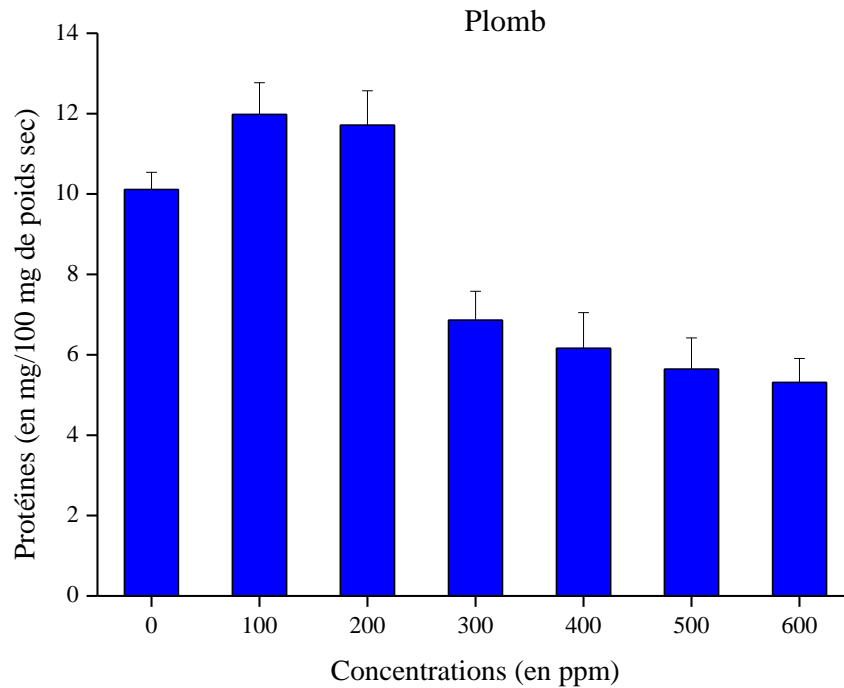


Figure 32 : Effets des différentes concentrations en $Pb(NO_3)_2$ [100, 200, 30, 400, 500 et 600 ppm] sur les quantités en protéines (mg/100 mg de poids sec) des plantules de *Marrubium vulgare* L. par rapport aux témoins. Les dosages ont été réalisés au 20^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 3 dosages différents \pm écart-type.

IV-1-4-2- Protéines des traités au $NiSO_4$

Lorsqu'on applique du Ni sur les graines de *Marrubium vulgare* L., les plantules qui en sont issues renferment une quantité équivalente en protéines ($10,32 \pm 1,09$ mg/100 mg de poids sec) que les plantules témoins ($10,11 \pm 0,43$ mg/100 mg de poids sec), et ce lorsque la concentration du stress Ni est de [100 ppm].

Au-delà, toutes les concentrations testées ne font que baisser le contenu protéinique des plantules. La diminution est fonction de la concentration appliquée. Ainsi, ce contenu baisse de 43,2% pour une application de [200 ppm] ; de 67,5% pour une application de [300 ppm] ; de 74,6% pour une application de [400 ppm] ; de 87,4% pour une application de [500 ppm] et de 92,4% pour une application de [600 ppm] (**Fig. 33**).

Le pourcentage de diminution est presque de même ordre pour les 2 applications de [300 et 400 ppm]. C'est aussi le cas pour les 2 applications de [500 et 600 ppm] (**Fig. 33**).

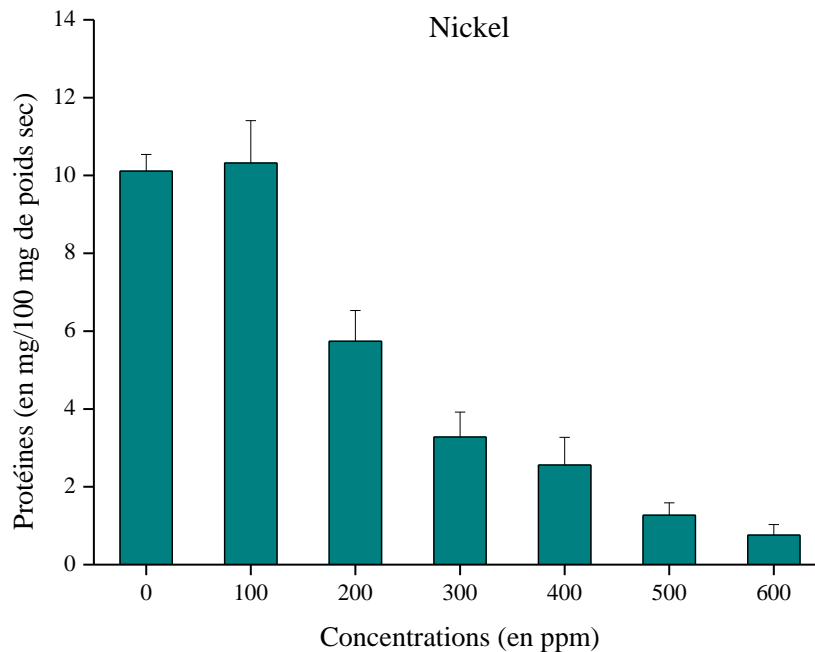


Figure 33 : Effets des différentes concentrations en NiSO₄ [100, 200, 30, 400, 500 et 600 ppm] sur les quantités en protéines (mg/100 mg de poids sec) des plantules de *Marrubium vulgare* L. par rapport aux témoins. Les dosages ont été réalisés au 20^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 3 dosages différents ± écart-type.

IV-1-4-3- Effets sur le contenu protéinique des traitements au plomb vs nickel

Exprimé en terme de poids sec, le total des protéines des plantules de *Marrubium vulgare* L. est sensiblement égal (rapport Pb / Ni de 1,15) entre les 2 types de traités au Pb et au Ni avec la seule concentration de [100 ppm] et ne différant pas trop de celui enregistré chez les témoins (**Tab. 7**).

Ce total des protéines diminue en revanche à partir d'une application en Pb de [300 ppm] et d'une application en Ni de seulement [200 ppm]. Le contenu protéinique étant deux fois plus élevé chez les traités au Pb que ceux traités au Ni aux concentrations de [200 et 300 ppm], indiquant que l'effet négatif du Ni sur ce contenu protéinique étant beaucoup plus conséquent que celui imposé dès lors par le Pb (**Tab. 7**).

Aussi, le rapport Pb / Ni ne fait qu'augmenter lorsqu'on augmente les concentrations d'application du stress métallique aux graines [400, 500 et 600 ppm], qu'il soit par le Pb ou par le Ni. A cet effet, les plantules qui en sont issues montrent des contenus protéiniques en constante baisse, avec une baisse encore plus drastique lorsqu'il s'agit du Ni que du Pb (**Fig. 32 et 33 ; Tab. 7**).

Tableau 7 : Rapport Pb / Ni et contenu protéinique des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées (témoins) et des graines traitées par différentes concentrations [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en Pb(NO₃)₂ et en NiSO₄. Les dosages ont été réalisés au 20^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination et représentent une valeur moyenne de 3 dosages différents ± écart-type.

	Témoins	100 ppm	200 ppm	300 ppm	400 ppm	500 ppm	600 ppm
Pb(NO ₃) ₂	10,1±0,4	11,9±0,8	11,7±0,8	6,8±0,7	6,1±0,9	5,6±0,8	5,3±0,6
NiSO ₄		10,3±1,1	5,7±0,8	3,3±0,6	2,5±0,7	1,3±0,3	0,7±0,3
Pb / Ni	1	1,15	2,05	2,06	2,44	4,30	7,57

IV-1-5- Cinétique de la longueur du 1^{er} axe feuillé

Au bout de 10 jours depuis la 1^{ère} mise à germination des graines témoins, traitées au Pb et traitées au Ni, les plantules de *Marrubium vulgare* L. qui en sont issues ont été transférées en pots contenant un mélange sol – sable et sont laissées durant 6 semaines de temps. Durant ces 6 semaines, des mesures hebdomadaires du 1^{er} axe feuillé émergeant ont été réalisées.

IV-1-5-1- Longueur du 1^{er} axe feuillé des témoins

Le 1^{er} axe feuillé en développement se compose de deux feuilles opposées. Son émergence étant tardive, les mesures effectives n'ont été entamées qu'au bout de la 2^{ème} semaine depuis le transfert en pot. Les mesures effectuées chez les plantules témoins donnent un axe feuillé mesurant à peine 2,0 ± 0,0 mm de long, qui évolue rapidement à 6,75 ± 1,25 mm au bout de la 3^{ème} semaine, puis à 11,6 ± 1,14 mm au bout de la 4^{ème} semaine et à 14,2 ± 1,3 mm au bout de la 5^{ème} semaine, avant de finir par atteindre une longueur mesurée moyenne de 27,5 ± 0,57 mm au bout de la 6^{ème} semaine (**Fig. 34**). A ce stade, un second axe feuillé composé de 2 autres feuilles opposées et décussées prend le relais du premier axe et se développe également en conséquence.

IV-1-5-2- Longueur du 1^{er} axe feuillé des traités au Pb(NO₃)₂

En traitant au préalable les graines avec différentes concentrations de Pb, les plantules qui se sont développées et transférées en pots développent un 1^{er} axe feuillé qui évolue dans le temps au même titre que celui des témoins, et ce uniquement pour les 3 premières concentrations appliquées, à savoir [100, 200 et 300 ppm]. C'est ce que montre la figure ci-dessous, où les courbes enregistrées considérant les écarts-types obtenus épousent en tous points la courbe des témoins (Fig. 34).

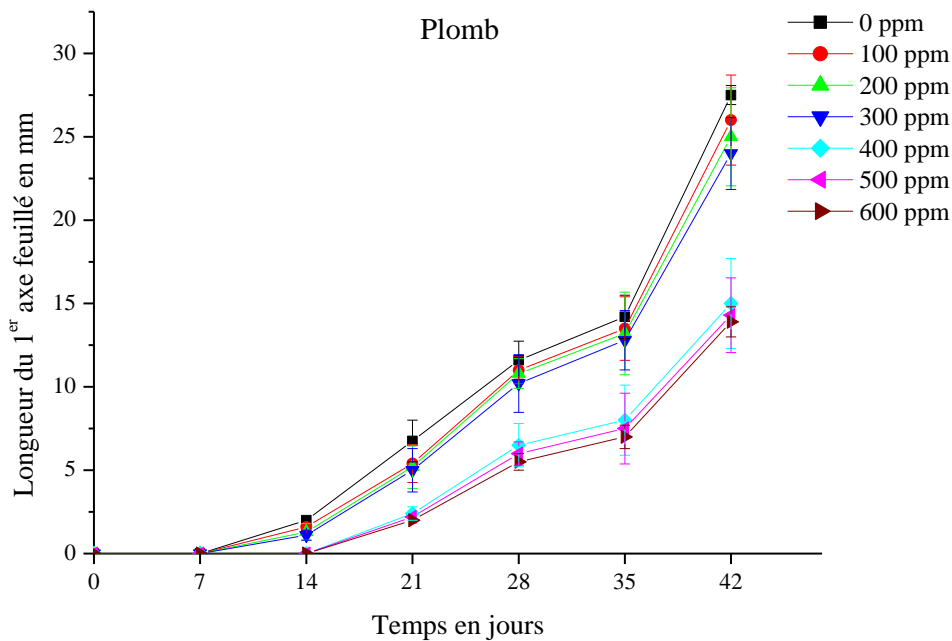


Figure 34 : Evolution des longueurs du 1^{er} axe feuillé des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines témoins [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations en Pb(NO₃)₂ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en fonction du temps. Ces mesures ont été réalisées chaque semaine depuis le transfert des plantules en pots, effectué au 10^{ème} jour depuis la 1^{ère} mise à germination des graines.

Les 3 concentrations les plus élevées de [400, 500 et 600 ppm] se distinguent des 3 premières concentrations utilisées sur l'émergence du 1^{er} axe feuillé. En effet, l'émergence de cet axe enregistre un retard d'une semaine supplémentaire, étant visible qu'à partir de la 3^{ème} semaine depuis le transfert en pot. Aussi, le développement de cet axe au cours du temps ne peut par la suite rattraper les longueurs moyennes des précédents cas considérés. Moyennement et en tous points, ils sont de moitié moins longs que les mesures précédemment réalisées dans le cas des traités avec les concentrations de [100, 200 et 300 ppm] (Fig. 34).

IV-1-5-3- Longueur du 1^{er} axe feuillé des traités au NiSO₄

Le transfert des plantules issues des germinations des graines traitées aux différentes concentrations en Ni n'a pas été concluant et n'a pas permis de développer suffisamment de plantules aux 1^{ers} axes feuillés apparents pour être comptabilisés et considérés.

IV-2- Discussion

IV-2-1- Germination des graines de *Marrubium vulgare* L.

La germination des graines du *Marrubium vulgare* L. se déroule entre le second et le quatrième jour après la 1^{ère} mise à germination des graines témoins, traitées par différentes concentrations en Pb ou bien en Ni. Le nombre maximum de graines qui germent est atteint dès le 4^{ème} jour, n'évoluant que très peu le reste du temps du suivi de la germination. Les pourcentages cumulés moyens obtenus au final dépassent par ailleurs 94% pour l'ensemble des lots considérés.

Même le temps moyen de germination ne change pas entre les différents lots considérés. Il est non seulement identique pour les 2 lots traités par rapport à celui des témoins, mais aussi entre les deux types de traitements testés, Pb et Ni, lorsqu'on les compare entre eux concentration par concentration.

Le stress appliqué par l'utilisation du Pb ou le Ni, n'ont donc pas modifié le pouvoir germinatif des graines du marrube, assurant une germination identique à celle des témoins par rapport aux 3 paramètres pris en compte : cinétique de la germination, pouvoir germinatif et temps moyen de germination qui relate la vitesse de la germination.

Lorsqu'on regarde de plus près la littérature dédiée aux effets du Pb sur la germination, cet élément entrave en général le processus de la germination des plantes notamment cultivées (Seneviratne et al. 2017). Ceci reste valable pour une diversité d'espèces comprenant *Pinus halepensis* Miller (Nakos, 1979), *Oryza sativa* L., *Hordeum vulgare* L. (Tomulescu et al. 2004), *Vigna radiata* L. (Ashraf and Ali, 2007), *Spartina alterniflora* Loisel. (Sengar et al. 2009), *Lens culinaris* Medikus, *Medicago sativa* L. (Sędzik et al. 2015), *Zea mays* L. (Zhang et al. 2018) et *Cynodon dactylon* (Xiong et al. 2021).

A titre indicatif, des concentrations de 1 mM en Pb induisent une diminution de 14 à 30% de la germination des graines du riz tout en réduisant la croissance des semis de 13 à 45% (Verma and Dubey, 2003). La germination des graines de 2 espèces cultivées, blé tendre et lentille, sur du papier filtre imbibé de 20 mM de Pb(NO₃)₂ est fortement inhibée, à hauteur de 60% (Mesmar and Jaber, 1991). C'est ce qui caractérise également les graines de *Medicago sativa* L. dont la germination diminue avec les concentrations en Pb (1, 2, 4, 8, 16 et 24 mM) appliquées (Yahaghi et al. 2019).

Dans un travail plus récent mené sur 3 cultivars différents de *Sorghum bicolor* (variétés rouge, blanche et *shahla*), auxquels on a appliqué des concentrations variées en Pb, ces variétés montrent une capacité germinative diminuant avec l'augmentation de la concentration en Pb utilisée (100, 200, 400 et 800 mg L⁻¹). Les variétés amendées par 800 mg L⁻¹ à titre d'exemple induisent d'ailleurs près de 27,6 ; 18,5 et 32,14 de pourcentage de réduction de la germination, respectivement chez les variétés rouge, blanche et *shahla* (**Osman and Fadhlallah, 2023**).

Pour expliquer ces inhibitions, les auteurs avancent l'interférence des ions Pb avec les enzymes associées à l'hydrolyse et la mobilité des réserves nutritives telles que les carbohydrates et les protéines nécessaires au métabolisme et au développement de l'embryon, sans quoi la germination ne peut avoir lieu (**Sengar et al. 2009 ; Singh et al. 2010**). Ces derniers auteurs attribuent également l'effet inhibiteur exercé sur la germination aux altérations touchant la perméabilité sélective des systèmes membranaires, ou bien encore à la perte de viabilité en conséquence d'une diminution de l'énergie générée par l'embryon (**Singh et al. 2010 ; Osman and Fadhlallah, 2023**).

En clair, la germination n'est entravée qu'en raison de l'activité antagoniste exercée par le Pb sur les amylases et les protéases des graines (**Sengar et al. 2009**). Ceci dit, **Yang et al. (2010)** trouvent que le stress induit par le Pb stimule la synthèse NADH-dépendante du H₂O₂ extracellulaire dans les graines en germination, ce qui provoque l'arrêt de ce processus chez le blé. Quoiqu'il en soit, il y a lieu de noter que les effets du Pb sur la germination diffèrent d'une espèce à l'autre, de la concentration utilisée et de la durée d'exposition à ce stress (**Gupta et al. 2009 ; Gul et al. 2019**).

Justement aux concentrations expérimentées, la germination des graines du marrube n'a pas été entravée par les essais que nous avons menés en contradiction avec ce qui est généralement admis. Ceci dit, nos résultats rejoignent plutôt ce qui a été trouvé par **Islam et al. (2007)** chez *Elsholtzia argyi* H., une espèce appartenant à la famille des Lamiacées, tout comme *Marrubium vulgare* L. En effet, il a été rapporté qu'aux fortes concentrations, le Pb était paradoxalement capable d'accélérer la capacité germinative des graines de *Elsholtzia argyi* H. Simultanément, cette germination ainsi rehaussée affecte néanmoins sensiblement la croissance des racines (**Islam et al. 2007**).

Pour le Ni, la littérature est également abondante en effets toxiques inductibles sur la germination par cet élément métallique, certes indispensable lorsqu'il est faiblement concentré, mais aux effets toxiques lorsqu'il est utilisé au-delà d'une certaine limite (**Ahmad and Ashraf, 2011 ; Torres et al. 2016**). C'est ce qu'a été rapporté chez *Grevillea exul* (**Léon et al. 2005**), *Helianthus annuus* (**Ahmad et al. 2009**) et *Brassica napus* (**Yang and Zhao, 2013**),

Ainsi, un traitement de 200 ppm en NiSO₄ affecte sévèrement la germination des graines d'*Abrus precatorius* (Vyas, 2017). L'utilisation de concentrations variées (5, 10, 25, 50 et 75 mg L⁻¹) en chlorure de nickel (NiCl₂) sur la germination des graines de 9 cultivars différents de blé (*Triticum aestivum* L.), montre une diminution graduelle du pourcentage de germination chez les 9 cultivars, qui augmente à chaque fois que l'on augmente la concentration du NiCl₂. A ce titre, le cultivar PBW-502 montre une germination minimale (80, 85, 70, 65, 65 et 60%) aux concentrations en NiCl₂ respectivement de (0, 5, 10, 25, 50 et 75 mg L⁻¹) par comparaison au lot témoin. Au contraire, le cultivar HD-3118 exhibe une germination maximale de (96, 97, 94, 87, 85 et 80%) aux concentrations respectives de (0, 5, 10, 25, 50 et 75 mg L⁻¹). De cette étude, il est clair que HD-3118 est relativement plus résistant que le cultivar PBW-502 au traitement induit par NiCl₂ (Shweti et al. 2018).

Chez *Vigna unguiculata* L., la réduction de la germination ne commence que lorsqu'on utilise une concentration supérieure à 2,4 mM, toutes les autres concentrations testées (0,6 ; 1,2 ; 1,8 et 2,4) n'ont pas significativement réduit le pourcentage de germination des graines de *Vigna* par rapport aux témoins (Mujeeb et al. 2019).

Il y a lieu de noter que l'utilisation de différents sels de Ni conduit à des réponses différentes au sein de la même espèce. En effet, l'utilisation du Ni sous sa forme NiCl₂ entrave fortement la germination des graines de *Grevillea exul* var. *rubiginosa*, ce que ne fait pas le Ni sous sa forme NiSO₄. *Grevillea exul* est considérée comme une espèce résistante au Ni par rapport au fait que la germination des graines traitées par une concentration de plus de 50 mg L⁻¹ de NiSO₄ étant similaire aux graines témoins. Ce traitement n'a par ailleurs produit qu'une inhibition de 30% de la germination lorsqu'on a utilisé du NiCl₂ (Léon et al. 2005).

De ce qui précède, les faibles concentrations en Ni n'entravent nullement la germination. Ce sont les fortes concentrations qui ont ce pouvoir inhibiteur sur les pourcentages de germination obtenus au final. Exceptionnellement, il a été trouvé que les caryopses du riz (Das et al. 1978) et le maïs (Seregin and Kozhevnikova, 2005) germent même aux fortes concentrations en sels de Ni (10⁻² M). Tout comme ce qui a été constaté chez les graines de marrube en présence de fortes concentrations en NiSO₄.

Le Ni est considéré comme un élément essentiel aux plantes impliqué dans le processus de métabolisation de l'urée. La présence du Ni augmente également la germination des graines et la vigueur des plantules qui en sont issues, pour des raisons qui restent encore à élucider (Sreekanth et al. 2013). En effet, rien que du côté de la germination, des études précédentes ont rapportés les effets bénéfiques de la présence du Ni sur la germination des graines des espèces réputées résistantes au Ni, c'est le cas des espèces hyper accumulatrices du Ni appartenant au genre *Alyssum* (Homer et al. 1991), ou encore des espèces tolérantes telles que *Echinochloa colona* L. (Rout et al. 2000) et *Medicago sativa* (Peralta et al. 2001).

Les fortes concentrations en Ni qui ont un effet inhibiteur sur la germination se manifestent tout comme le Pb, par leurs effets directs sur les activités des amylases, des protéases et des ribonucléases, mobilisant de ce fait moins de réserves nutritives pour permettre la germination des graines (Ahmad and Ashraf, 2011). D'autre part, le Ni réduit tous les processus cellulaires pourvoyeurs en énergie pour les besoins de la germination des graines (Hall, 2002) ; de même que l'effet toxique du Ni sur la germination peut être interprété comme une interférence compétitive avec les autres métaux essentiels ainsi que par l'induction d'un stress oxydatif (Chen et al. 2009).

Pareillement au Pb, l'influence du Ni sur la germination est aussi dépendant du type d'espèce considérée, de la concentration utilisée, de temps d'exposition au stress auquel il y a lieu de rajouter la nature du sel de Ni qui a été expérimenté (Léon et al. 2005 ; Shweti et al. 2018 ; Yadav et al. 2018 ; Mujeeb et al. 2019).

IV-2-2- Mesures biométriques des plantules de *Marrubium vulgare* L.

Les mesures biométriques réalisées au 20^{ème} jour sur les plantules issues des germinations des graines non traitées montrent une longueur racinaire moyenne de 46,2 mm et une longueur des hypocotyles moyenne de 29,0 mm.

Le traitement des graines par du Pb à la concentration de [100 ppm] n'a pas influencé la longueur racinaire des plantules. L'influence s'exerce pour les concentrations de [200, 300, 400, 500 et 600 ppm] où nous enregistrons respectivement une diminution de 20,4 ; 29,6 ; 73,5 ; 78,2 et 92,0%. L'influence du Ni sur l'allongement racinaire des plantules du marrube est plus grande que celle imposée par le Pb. Le pourcentage d'inhibition de la croissance racinaire étant de 80,8% pour la seule concentration de [100 ppm]. Au-delà, les racines mesurées aux environs de 2 mm, brunissent sensiblement et paraissent amincies et frêles.

Pour les axes hypocotylés, les réductions enregistrées pour les différentes concentrations [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en Pb sont respectivement de 30,6 ; 48,2 ; 55,5 ; 73,2 ; 91,9 et 91,2%. Tout comme le cas de l'allongement racinaire et quel qu'en soit la concentration utilisée, le Ni réduit de plus de 86% l'allongement de l'axe hypocotylé des plantules du marrube.

Dans le cas du *Marrubium vulgare* L., si la germination n'a pas été entravée par l'utilisation du Pb, l'allongement des racines et des hypocotyles est par contre négativement influencé par l'utilisation du Pb au-delà de la concentration de [100 ppm]. C'est ce qui revient dans plusieurs travaux qui notent que la toxicité due aux effets du Pb, réduit déjà la mobilisation des réserves nutritives retardant et/ou réduisant la formation de la radicule et son émergence ainsi que celle de la partie aérienne (Cokkizgin and Cokkizgin, 2010).

A titre d'exemple, chez le blé, le Pb utilisé à une concentration de 1000 mg Kg⁻¹ inhibe de 45% l'allongement des racines et de 33% l'allongement de la partie aérienne (**Kanwal et al. 2020**). Des résultats similaires ont été constatés chez le sorgho (**Ertekin et al. 2020**) et *Cynodon dactylon* (**Xiong et al. 2021**). Aussi, chez *Sorghum bicolor*, considérant 3 variétés différentes (rouge, blanche et Shahla), il a été noté que le Pb utilisé à une concentration de 800 mg L⁻¹ réduisait respectivement de 67,16 ; 67,05 et 49,07% l'allongement de la racine. Pour ce qui est de la partie aérienne, les pourcentages de réduction sont respectivement de 54,61 ; 65,20 et 45,56% (**Osman and Fadhlallah, 2023**).

Ces 3 variétés répondent différemment au stress induit par le Pb. Une tolérance maximum est observée aux faibles concentrations, pendant que la plus forte concentration induit une diminution de tous les indices de tolérance déterminés (**Osman and Fadhlallah, 2023**).

Exposés aux fortes concentrations, la croissance diminue. Elle serait due à l'influence du Pb sur la division cellulaire et/ou l'élongation cellulaire, qui expliquerait l'entrave de l'allongement racinaire et l'émergence de la partie aérienne (**Patra et al. 2004 ; Kozhevnikova et al. 2009**).

D'autres mécanismes rentrent aussi en jeu pour expliquer ces entraves. **Hadi & Aziz (2015)** attribuent les effets retardant et toxique sur la croissance à l'influence exercée par le Pb sur la synthèse de la chlorophylle et la transpiration. **Jiang et Liu (2010)** constatent une perturbation des organites des cellules de méristèmes racinaires. Ces perturbations ont lieu suite au dysfonctionnement des membranes biologiques dues à la seule présence du Pb aux concentrations toxiques.

Même à faible concentration, exposés plus longtemps au Pb, les plantes ont du mal à développer leurs racines et leurs parties aériennes, en raison d'une inhibition plus fortement exercée dans le système racinaire qu'au niveau de toutes les autres parties de la plante (**Liu et al. 2008**). Les racines qui se développent sont très courtes et les feuilles peu nombreuses (**Islam et al. 2007 ; Kopittke et al. 2007**). En tout, l'inhibition de la croissance des plantes est expliquée par l'influence exercée par le Pb sur le métabolisme des nutriments (**Chatterjee et al. 2004**), des relations hydriques (**Rucińska-Sobkowiak et al. 2013**) et de la photosynthèse (**Qufei and Fashui, 2009**).

En utilisant du Ni sur les graines du *Marrubium vulgare* L., la germination n'étant pas entravée mais les conséquences sur la croissance des racines et des axes hypocotylés sont plus dramatiques par rapport au Pb, particulièrement pour la concentration de [100 ppm], qui a assuré aux plantules de se développer normalement.

Le Ni aux faibles concentrations favorise la croissance des plantules issues de la germination, pendant que les plus fortes concentrations affectent cette croissance (**Léon et al. 2005 ; Kumar et al. 2021**).

Le Ni utilisé sous forme de NiCl₂ aux faibles concentrations (5 mg L⁻¹) a la capacité d'allonger un peu plus la longueur de la racine de 7 cultivars de *Triticum aestivum* L. parmi les 9 testés. Cependant, les plus fortes concentrations réduisent de façon drastique les longueurs des racines chez tous les cultivars. La longueur minimum est enregistrée pour le cultivar PBW-343 (9,1 ; 9,3 ; 1,3 ; 1 ; 0,6 et 0,27 cm) respectivement pour les concentrations en NiCl₂ de 0, 5, 10, 25, 50 et 75 mg L⁻¹. Le cultivar HD-2985 montre en revanche une longueur racinaire de 20,6 ; 23,1 ; 4,5 ; 3 ; 2,1 et 1,5 pour respectivement les mêmes concentrations en NiCl₂ que précédemment (**Shweti et al. 2018**).

Même constat pour la partie aérienne influencée par les différentes concentrations en NiCl₂. Les résultats indiquent qu'en augmentant la concentration de l'élément métallique, la longueur de la partie aérienne diminue par comparaison au témoin. Les faibles concentrations n'ont en revanche aucun effet inhibiteur sur l'allongement de cette partie. Par ailleurs, le cultivar PBW-502 montre une longueur la plus faible (11,7 ; 11 ; 8,2 ; 3 ; 1,3 et 0,6 cm) respectivement pour les concentrations en NiCl₂ de 0, 5, 10, 25, 50 et 75 mg L⁻¹. Le cultivar HD-3043 montre par contre une longueur de 13,8 ; 13,2 ; 11,4 ; 10 ; 6,4 et 3,1 pour respectivement les mêmes concentrations en NiCl₂ testées précédemment (**Shweti et al. 2018**).

Cet état de fait s'applique également pour *Vigna unguiculata* L. dont les longueurs racinaires et des parties aériennes ne sont pas modifiées lorsqu'on utilise la concentration de 0,6 mM en NiSO₄. Les fortes concentrations appliquées de 1,2 ; 1,8 et 2,4 mM ne permettent pas aux racines et aux parties aériennes un allongement suffisant. Par ailleurs, dans ces expériences, le traitement au Ni est plus toxique pour les parties aériennes que pour les parties racinaires (**Mujeeb et al. 2019**). C'est le même constat pour cette espèce dont le taux de croissance n'est pas modifié par une concentration en NiSO₄ de 50 ppm par rapport au témoin ; par contre la concentration de 100 ppm induit une diminution notable de ce taux (**Asagba et al. 2019**).

Une teneur élevée en Ni exerce des effets néfastes sur la croissance des plantes, provoquant un raccourcissement des longueurs des pousses et des racines chez l'orge (**Rahman et al. 2005**). La réduction de la longueur des plumules et des racines, ainsi que les poids frais et sec chez le tournesol (**Singh et al. 2004 ; Ahmad et al. 2009**) et la tomate (**Kowalczyk et al. 2003**) ont été observés également en présence du Ni aux fortes concentrations. Aussi, dans les sols contaminés par le Ni, la germination des graines au même titre que la croissance des semis du riz sont également très affectés par la présence de cet élément métallique (**Maheshwari and Dubey, 2008**).

L'inhibition de la croissance induite par le Ni se produit en conséquence d'une faible synthèse de protéines, notamment des enzymes clés impliquées dans la mobilisation des

réserves nutritives indispensables à la germination (Pandey and Sharma, 2002 ; Lin and Kao, 2006 ; Maheshwari and Dubey, 2007 ; Ahmad and Ashraf, 2011), ou bien en réduisant l'absorption des micro- et des macroéléments essentiels dans les graines en germination (Ahmad et al. 2007) ou encore en affectant diverses voies métaboliques et processus en lien avec les divisions cellulaires (Ahmad and Ashraf, 2011).

Il y lieu de noter que l'exposition des graines du marrube au Ni a engendré un brunissement très rapide des radicules apparues, assez frêles et amincies qui ne se sont que peu ou pas du tout allongées le reste du temps de suivi de la germination. Cet état de fait empêche la partie aérienne de se développer normalement entraînant *in fini* la perte des plantules. C'est ce que rapporte Wood et al. (2006) qui constatent entre autres conséquences de la toxicité du Ni, un système racinaire très peu développé aux racines fibreuses et mortes, entraînant vers la fin la mort des plantes entières (Kumar et al. 2021).

IV-2-3- Protéines des plantules de *Marrubium vulgare* L.

Le contenu protéinique a été dosé sur des plantules de 20 jours issues des germinations témoins, traitées au Pb et traitées au Ni. Les résultats ont été rapportés en fonction du poids sec après avoir déterminé les teneurs en eau de chacun des lots aux différentes concentrations.

Ces résultats montrent que le Pb aux concentrations de [100 et 200 ppm], ne modifie que peu le contenu protéinique par rapport aux témoins, il diminue en revanche à chaque fois que l'on augmente la concentration de cet élément métallique traitant. Dans le cas du traitement au Ni, la seule concentration qui ne modifie pas le contenu protéinique par rapport aux témoins est l'application de [100 ppm]. Toutes les autres concentrations ne font que diminuer ce contenu protéinique.

En prime, le contenu protéinique est deux fois plus élevé chez les traités au Pb que ceux traités au Ni aux concentrations de [200 et 300 ppm]. Au-delà de la concentration de [300 ppm], les contenus protéiniques affichent des teneurs en baisse, avec en sus une baisse plus drastique dans le cas du Ni que dans le cas du Pb.

Il a été rapporté que le Pb interagit avec les protéines cytoplasmiques. Les effets sur le contenu protéinique restent encore à élucider lorsqu'il s'agit de concentrations d'application assez faibles (Pourrut et al. 2011 ; Xia et al. 2019), par contre lorsqu'il est utilisé aux concentrations élevées son action ne diffère pas de ce qui a été déjà avancé pour tous les autres éléments traces métalliques, qui présentent la faculté de diminuer le pool des protéines (Chatterjee et al. 2004 ; Garcia et al. 2006 ; Mishra et al. 2006 ; Piotrowska et al. 2009).

Cette diminution quantitative des teneurs en protéines totales a été attribuée en premier lieu aux effets induits par le Pb sur la production des espèces réactives de l'oxygène inductibles d'un stress oxydatif (Gupta et al. 2009 ; Piotrowska et al. 2009).

Une modification de l'expression des gènes, l'élévation de l'activité enzymatique de la ribonucléase, l'utilisation des protéines pour détoxifier le Pb, la diminution du pool des acides aminés, la perturbation du métabolisme azoté sont également évoqués pour expliquer la réduction du contenu protéinique en présence du Pb (Chatterjee et al. 2004 ; Gopal and Rizvi, 2008 ; Gupta et al. 2009 ; Pourrut et al. 2011). A noter que le contenu en certains acides aminés, la proline entre autres, augmente de teneur en présence du Pb, participant ainsi à la tolérance du stress imposé par cet élément (Qureshi et al. 2007).

Les faibles concentrations en Pb sont susceptibles d'induire une accumulation du total des protéines (Mishra et al. 2006). Cette accumulation pourrait jouer un rôle de défense contre le stress induit par le Pb (Gupta et al. 2010), particulièrement pour les protéines impliquées dans le maintien du pouvoir redox des cellules, jouant un rôle équivalent à celui accompli par le glutathion ou par des phytochelatines (Jiang and Liu, 2010 ; Yadav, 2010).

En plus d'un changement quantitatif, le Pb peut affecter la composition qualitative des protéines cellulaires. Le profil protéinique de 2 variétés de *Cannabis sativa* L., l'une tolérante et l'autre sensible au Pb a été déterminé et comparé. Il se décline respectivement en 63 et en 371 profils protéiniques différents, que les auteurs ont regroupés en 14 catégories (Xia et al. 2019). A cet effet et en réponse au stress induit par le Pb, *Cannabis sativa* L. utilise ces profils protéiniques pour : (1) augmenter la biosynthèse de l'ATP ; (2) augmenter la respiration ; (3) renforcer le lien entre respiration et photosynthèse ; (4) améliorer la photosynthèse ; (5) améliorer l'assimilation de l'azote et du carbone ; (6) éliminer les espèces réactives de l'oxygène ; (7) réguler le mouvement d'ouverture et de fermeture des stomates ; (8) augmenter la capacité d'absorber et de transporter l'eau ; (9) raccourcir la période de croissance ; (10) protéger les protéines d'une éventuelle agrégation et dégrader les protéines mal repliées ; et (11) Stimuler le transport membranaire de l'ATP au sein ou en dehors des chloroplastes (Xia et al. 2019).

A l'instar du Pb, le traitement au Ni peut induire une élévation du contenu protéinique uniquement lorsqu'il est utilisé à faible concentration. C'est ce qui se passe chez *Nasturtium officinale* R., où la teneur en protéines augmente dans les racines et feuilles lorsque l'application en Ni ne dépasse pas 5 mg L⁻¹. Cependant, ce contenu protéinique diminue aux concentrations de 10 et 25 mg L⁻¹ (Duman and Ozturk, 2010). C'est ce qui se passe aussi chez *Elodea canadensis*, dont le contenu protéinique augmente lorsqu'on traite seulement avec la concentration de 10 µmol L⁻¹ en Ni (Maleva et al. 2009).

Le stress métallique induit par le Ni réduit le contenu protéinique et/ou altère leur structure via plusieurs mécanismes (Hassan et al. 2019). Le stress Ni augmente substantiellement la production des espèces réactives de l'oxygène, qui endommagent à leur tour les protéines (Gajewska et al. 2006). En outre, le Ni se lie également aux groupes fonctionnels des protéines, comme les groupes –SH, modifiant ainsi leur structure. Ces modifications réduisent en conséquence les activités des protéines enzymatiques contenant des groupes –SH (Seregin and Kozhevnikova, 2006).

Le stress induit par le Ni favorise une accumulation de différents acides aminés, provenant de l'hydrolyse des protéines, ce qui a également comme conséquence une réduction du contenu protéinique (Ali et al. 2009). Ces acides aminés peuvent servir à la détoxification des métaux et pourraient protéger les plantes de leurs effets toxiques (Hassan et al. 2019).

En effet, chez *Thlaspi*, une espèce réputée hyper accumulatrice du Ni, il a été observé une accumulation de la cystéine en plus du glutathion. Cette accumulation favorise la tolérance vis-à-vis du stress Ni grâce à l'amélioration du pouvoir antioxydant de la GSH-dépendante (Freeman et al. 2004). En plus de la cystéine, le stress Ni favorise une accumulation de l'histidine chez le colza ; ces acides aminés aident à la translocation du Ni des racines vers les parties aériennes où il est séquestré (Hall, 2002).

En conséquence, lors d'un stress induit par le Ni, les réactions des plantes se manifestent par une baisse de leur contenu protéinique, se traduisant par une accumulation des acides aminés, qui joueraient un rôle prépondérant lors de la réponse au stress, particulièrement chez les espèces les plus tolérantes du Ni (Clemens, 2001 ; Hall, 2002 ; Hassan et al. 2019).

IV-2-4- Développement du 1^{er} axe feuillé des plantules de *Marrubium vulgare* L.

Par transfert des plantules en pots, la suppression du stress métallique imposé préalablement aux graines a permis le développement d'un 1^{er} axe feuillé bien distinctif chez les prétraités au Pb, absent chez les prétraités au Ni.

Les mesures hebdomadaires effectuées sur ce 1^{er} axe feuillé ont montré une évolution concomitante des longueurs des prétraités au Pb avec les concentrations de [100, 200 et 300 ppm] par rapport aux témoins. Les prétraités avec les trois concentrations les plus fortes [400, 500 et 600 ppm] assurent également le développement de ce 1^{er} axe feuillé, quoique retardée d'une semaine et donc de moitié moins longs que ce qui a été enregistré chez les prétraités avec les concentrations les moins fortes (Fig. 35).

La germination des graines du *Marrubium vulgare* L. n'a pas été entravée par la présence du Pb, cependant la croissance des axes racinaires et des hypocotyles a été sensiblement inhibée, notamment aux fortes concentrations, en témoignent les longueurs enregistrées.

Ceci indique que le Pb a été absorbé au niveau racinaire et a induit ses effets inhibiteurs sur la croissance des racines et des axes hypocotylés lorsqu'il est administré particulièrement aux fortes concentrations.



Figure 35 : Suivi en pots des longueurs du 1^{er} axe feuillé des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines témoins [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations en $Pb(NO_3)_2$ [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm] en fonction du temps. De droite à gauche, respectivement les plantules témoins, les plantules traitées par les concentrations en pots dans l'ordre croissant. L'image d'en haut représente les plantules au bout de la 3^{ème} semaine après transfert en pots ; l'image d'en bas représente les plantules au bout de la 6^{ème} semaine après le transfert en pots.

Une translocation limitée du Pb des racines vers les parties aériennes se produit lorsque la barrière imposée par l'endoderme est rompue en présence de fortes concentrations en Pb (Verma and Dubey, 2003). Au niveau cellulaire, le Pb peut être secrété dans les vacuoles (Seregin et al. 2004), sinon il atteint les noyaux, les chloroplastes et les mitochondries exerçant ainsi des effets toxiques sur ces organites, les cellules et par ricochet touche l'organe (Sharma and Dubey, 2005).

Une fois atteint le niveau cellulaire, l'activité de nombreuses enzymes est inhibée, la nutrition minérale et l'équilibre hydrique sont perturbés, le statut hormonal est modifié, les membranes sont perméables et un stress oxydatif s'installe. A cet instant, la croissance de l'organe est retardée, les racines brunissent et une chlorose prend place au niveau des parties aériennes (Verma and Dubey, 2003 ; Sharma and Dubey, 2005).

Nos plantules transférées en pots après le stress subit par différentes concentrations en Pb, ont cette capacité de développer leur partie aérienne, au même titre que les témoins pour les 3 premières concentrations testées et après un retard pour les 3 plus fortes concentrations testées. Il y a lieu de noter également que les plantules obtenues après les traitements notamment de [200 et 300 ppm] paraissent plus vigoureuses que les témoins, exhibant un volume foliaire plus consistant (**Fig. 35**).

Ceci indique une capacité de tolérance qui pourrait s'exprimer selon plusieurs mécanismes, combinant entre l'exclusion du Pb, la mise en place de systèmes de défense non-spécifiques et la détoxification (**Sharma and Dubey, 2005**).

L'exclusion consiste en (1) une perte radiale de l'oxygène à partir des racines ; (2) l'immobilisation du Pb^{2+} au niveau de la rhizosphère ; (3) une liaison avec les groupements -COOH des acides uroniques des mucilages ; (4) une séquestration du Pb^{2+} au niveau de la paroi ; (5) une exsudation de composés précipitant le Pb^{2+} tel l'oxalate.

Les systèmes de défense non-spécifiques incluent (1) une accumulation des osmolytes compatibles ; (2) un système de défense antioxydant ; (3) une synthèse accrue des polyamines ; (4) des dépôts de callose et de subérine au niveau des parois ; (5) un changement de la balance hormonale et (6) une élévation du contenu en acides aminés libres.

Les systèmes de détoxification comprennent (1) une séquestration du Pb^{2+} au niveau vacuolaire par formation de complexes avec les phytochelatines ; (2) une détoxification via le glutathion ou (3) encore via des acides aminés. Une synthèse des phytochelatines résulterait de l'activation de plusieurs enzymes dont la glutamyl cystéine synthétase, la glutathion synthétase et la glutathion réductase (**Wierzbica and Antosiewicz, 1993**).

S'agissant du Ni, le transfert de nos plantules issues des germinations des graines traitées par différentes concentrations en Ni, n'a pas été concluant et n'a pas permis de développer suffisamment de plantules aux 1^{ers} axes feuillés apparents pour être comptabilisés et considérés.

En effet comme souligné précédemment, le Ni qui n'a pas entravé la germination, a donné lieu en revanche à des racines qui ne se développent que peu lorsque la concentration est la plus faible, sinon brunies, frêles et amincies. Leur transfert en pot, sans présence de Ni, n'a nullement permis à l'axe hypocotylé d'émerger, encore moins à l'axe feuillé de se développer, entraînant rapidement la perte de ces plantules.

Psaras & Manetas (2001) signalent une présence du Ni dans les téguments des graines, en grandes quantités autour du micropyle et de l'épiderme, en faible quantités dans les cellules du mésophylle des cotylédons. **Cataldo et al. (1978)** trouvent que le Ni est hautement mobile chez le soja, dès son absorption au niveau racinaire ; il est rapidement transporté vers les

parties racinaires nouvellement formées et vers les parties aériennes où il est accumulé dans les feuilles (**Page and Feller, 2005**). Inversement, des auteurs notent que le Ni est fortement accumulé dans les parties racinaires par rapport aux parties aériennes, et ce chez le maïs (**Baccouch et al. 2001**) et l'orge (**Brune and Deitz, 1995**).

Avec ces dernières observations, somme toutes contradictoires, l'absorption du Ni et sa distribution dans d'autres parties de la plante quoiqu'encore ambiguës, n'empêchent pas de statuer sur le fait que sa toxicité aux fortes concentrations, enregistrée au niveau racinaire, se répercute négativement sur la croissance de la racine et de la partie aérienne du marrube.

Il est évident que la toxicité du Ni affecte sévèrement la croissance au niveau des organes considérés : radicule, axe hypocotylé et 1^{er} axe feuillé et donc des plantules. Cependant, les mécanismes exacts à l'origine des effets induits par le Ni sur la croissance des plantes ne sont toujours pas clairs comme l'avance **Hassan et al. (2019)**.

CONCLUSION

V- Conclusion

En se projetant sur une éventuelle utilisation de *Marrubium vulgare* L. en phytoremédiation, un premier travail préliminaire a été réalisé. Il vise la caractérisation sous stress métallique d'une partie du cycle de vie d'une telle espèce : son potentiel germinatif et ses premiers stades de la croissance à l'échelle de plantule. Pour ce faire, deux éléments traces métalliques, le Pb et le Ni ont été utilisés dans le milieu de germination des graines à des concentrations croissantes, variant de [100 à 600 ppm]. Le Pb a été apporté sous une forme de nitrate de plomb [Pb(NO₃)₂] et le Ni a été apporté sous une forme de sulfate de nickel hexahydraté [NiSO₄].

Pendant la vingtaine de jours où le processus de germination a été suivi, les graines testées germent au même titre que ce qui a été observé pour les témoins après le nécessaire temps de latence de deux jours au minimum. Un maximum de graines germe dès le 4^{ème} jour des dénombrements et la capacité germinative obtenue au final dépasse 94% pour les 2 types de traitements appliqués et pour toutes les concentrations testées.

La vitesse de la germination des graines déterminée à travers les temps moyens de germination a été identique entre les 2 traitements appliqués vis-à-vis des concentrations testées et par comparaison au lot des témoins.

Si la capacité germinative des graines de *Marrubium vulgare* L. n'a pas été entravée par le traitement au Pb ou au Ni, donnant lieu à l'émergence d'une racicule d'au moins 2 mm de long, la différence réside au sein de la croissance de cet axe racinaire à proprement dit.

En effet, si cet axe s'allonge dans le cas du Pb au cours du temps, cet allongement diffère d'une concentration à une autre. L'allongement étant équivalent à celui des témoins lorsque la concentration est de [100 ppm] uniquement, diminuant au fur et à mesure que l'on augmente les concentrations d'application. Les fortes concentrations de plus de [400 ppm] réduisent de façon drastique l'allongement racinaire.

Dans le cas du Ni et hormis la concentration de [100 ppm] qui permet un allongement quoique minime de l'axe racinaire, l'ensemble des concentrations testées portent atteintes à l'allongement de cet axe. Les racicules émergentes à hauteur de 2 mm, ne s'allongent plus et brunissent très rapidement. Les concentrations utilisées se sont révélées toxiques à la croissance de la racicule dans le cas du traitement au Ni par rapport au traitement au Pb.

A l'instar de l'allongement racinaire, l'allongement de l'axe hypocotylé des traités avec les différentes concentrations en Pb ne fait que diminuer au fur et à mesure que l'on augmente la concentration. Le traitement au Ni, rien qu'avec la concentration de [100 ppm] inhibe l'allongement de cet axe de 86%, le reste des concentrations de plus de 93%.

Tout indique qu'une application en Pb de plus de [300 ppm] se répercute négativement sur l'allongement de la racicule et de l'axe hypocotylé. Le nickel se manifeste par des toxicités apparentes sur ces allongements dès une application de [100 ppm].

Une approche via le dosage des protéines totales a été effectuée pour étayer ces constatations. Les dosages ont été effectués au 20^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination des graines et les valeurs ont été exprimées en mg/100 mg de poids sec après avoir déterminé les teneurs en eau des plantules. Si le contenu protéinique des plantules issues des traitements de [100 et 200 ppm] en Pb est sensiblement le même ou même légèrement supérieur à celui des témoins, toutes les autres concentrations de [300 ppm] et plus réduisent ce contenu. Pour le Ni, la seule concentration de [100 ppm] permet d'avoir le même contenu protéinique que celui des témoins, le restant des concentrations ne fait que décliner ce contenu, beaucoup plus que le traitement au Pb lorsqu'on considère concentration par concentration.

En suspendant le stress métallique par transfert des plantules sur un substrat sain dès le 10^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination, il nous a été donné de suivre hebdomadairement le développement du 1^{er} axe feuillé des plantules transférées.

Après un temps d'adaptation et d'acclimatation, le 1^{er} axe feuillé émerge et se développe pour individualiser 2 feuilles opposées. Le traitement au Pb aux concentrations de [100, 200 et 300 ppm] aboutit au même résultat de point de vue allongement hebdomadaire que ce qui a été observé chez les témoins. Le reste des concentrations sans aucune incidence inhibitrice, développe l'allongement de cet axe avec néanmoins un retard constant par rapport aux témoins. Le Ni en revanche, n'a donné lieu à aucun développement, puisque le transfert des plantules issues des germinations prétraitées aux différentes concentrations n'a permis aucune acclimatation réussie susceptible d'être considérée.

Marrubium vulgare L. s'est révélé assez tolérant du Pb par rapport au Ni aux premiers stades de la croissance. Cette affirmation reste tributaire d'un travail complémentaire qui doit être mené en perspective dans les parties radiculaires et aériennes par dosage de ces deux éléments métalliques, d'estimer les activités enzymatiques qui s'y déroulent et de tenter *in fini* de suivre les autres stades du cycle de vie de la plante jusqu'à la production de la biomasse. Il y a lieu aussi de combiner toutes ces projections avec des expérimentations qu'il faut mener *in situ*, pour pouvoir statuer sur la capacité de phytoremédiation ou non de cette espèce.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Acimović M., Jeremić K., Salaj N., Gavarić N., Kiprovski B., Sikora V., Zeremski T. **2020**. *Marrubium vulgare* L.: A phytochemical and pharmacological overview. *Molecules* 24;25(12):2898. DOI: [10.3390/molecules25122898](https://doi.org/10.3390/molecules25122898)
- Ahmad M.S., Hussain M., Saddiq R., Alvi A.K. **2007**. Mungbean: a nickel indicator, accumulator or excluder? *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 78(5):319-324. DOI: [10.1007/s00128-007-9182-y](https://doi.org/10.1007/s00128-007-9182-y)
- Ahmad M.S., Hussain M., Ashraf M., Ahmad R., Ashraf M.Y. **2009**. Effect of nickel on seed germinability of some elite sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. *Pakistan Journal of Botany* 41(9):1871-1882. ISSN: 0556-3321
- Ahmad M.S., Ashraf M. **2011**. Essential roles and hazardous effects of nickel in plants. In: Whitacre D. (Ed.) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Springer, New York, NY. Vol. 214:125-167. DOI: [10.1007/978-1-4614-0668-6_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0668-6_6)
- Alam M.M., Hayat S., Ali B., Ahmad A. **2007**. Effect of 28-homobrassinolide treatment on nickel toxicity in *Brassica juncea*. *Photosynthetica* 45(1):139-142. DOI: [10.1007/s11099-007-0022-4](https://doi.org/10.1007/s11099-007-0022-4)
- Ali M.A., Ashraf M., Athar H.R. **2009**. Influence of nickel stress on growth and some important physiological/biochemical attributes in some diverse canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Journal of Hazardous Materials* 172(2-3):964-969. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2009.07.077](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.07.077)
- Ali H., Khan E. **2018a**. What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of the term “heavy metals”: proposal of a comprehensive definition. *Toxicological & Environmental Chemistry* 100:6-19. DOI: [10.1080/02772248.2017.1413652](https://doi.org/10.1080/02772248.2017.1413652)
- Ali H., Khan E. **2018b**. Bioaccumulation of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in freshwater fish; Risk to human health. *Environmental Chemistry Letters* 16:903-917. DOI: [10.1007/s10311-018-0734-7](https://doi.org/10.1007/s10311-018-0734-7)
- Ameen N., Amjad M., Murtaza B., Abbas G., Shahid M., Imran M., Naeem M.A., Niazi N.K. **2019**. Biogeochemical behavior of nickel under different abiotic stresses: toxicity and detoxification mechanisms in plants. *Environmental Science and*

- Pollution Research International* 26(11):10496-10514. DOI: [10.1007/s11356-019-04540-4](https://doi.org/10.1007/s11356-019-04540-4)
- Asagba S.O., Apiamu A., Enokpe F.E. **2019**. Effects of nickel toxicity on the indices of germination and Ca²⁺ ATPase activity in cowpea plant (*Vigna unguiculata*). *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* 23(6):1147-1152. DOI: [10.4314/jasem.v23i6.23](https://doi.org/10.4314/jasem.v23i6.23)
- Ashraf R., Ali T.A. **2007**. Effect of heavy metals on soil microbial community and mung beans seed germination. *Pakistan Journal of Botany* 39(2):629-636. <https://www.researchgate.net/profile/Rabia-Ashraf-3/publication/266583093>
- Baccouch S., Chaoui A., El Ferjani E. **2001**. Nickel toxicity induces oxidative damage in *Zea mays* roots. *Journal of Plant Nutrition* 24(7):1085-1097. DOI: [10.1081/PLN-100103805](https://doi.org/10.1081/PLN-100103805)
- Baskin J.M., Baskin C.C. **2004**. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14:1-16. DOI: [10.1079/SSR2003150](https://doi.org/10.1079/SSR2003150)
- Bazihizina N., Redwan M., Taiti C., Giordano C., Monetti E., Masi E., Azzarello E., Mancuso S. **2015**. Root based responses account for *Psidium guajava* survival at high nickel concentration. *Journal of Plant Physiology* 174:137-146. DOI: [10.1016/j.jplph.2014.10.011](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.10.011)
- Bazzaz F.A., Rolfe G.L., Windle P. **1974**. Differing sensitivity of corn and soybean photosynthesis and transpiration to lead contamination. *Journal of Environmental Quality* 3(2):156-158. DOI: [10.2134/jeq1974.00472425000300020015x](https://doi.org/10.2134/jeq1974.00472425000300020015x)
- Boisvert S., Joly D., Leclerc S., Govindachary S., Harnois J., Carpentier R. **2007**. Inhibition of the oxygen-evolving complex of photosystem II and depletion of extrinsic polypeptides by nickel. *Biometals* 20(6):879-889. DOI: [10.1007/s10534-007-9081-z](https://doi.org/10.1007/s10534-007-9081-z)
- Bouterfas K., Mehdadi Z., Latreche A., Cherifi K. **2013**. Autoécologie du Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) et caractérisation de la biodiversité végétale dans le Djebel de Tesala (Algérie nord-occidentale). *Ecologia Mediterranea* 39(2):39-57. www.persee.fr/doc/ecmed_0153-8756_2013_num_39_2_1279

- Bradford M.M. **1976**. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254. DOI: [10.1006/abio.1976.9999](https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999)
- Brune A., Dietz K.J. **1995**. A comparative analysis of element composition of roots and leaves of barley seedlings grown in the presence of toxic cadmium, molybdenum, nickel and zinc concentrations. *Journal of Plant Nutrition* 18(4):853-868. DOI: [10.1080/01904169509364943](https://doi.org/10.1080/01904169509364943)
- Burton K.W., Morgan E., Roig A. **1984**. The influence of heavy metals on the growth of sitka-spruce in South Wales forests. II. Greenhouse experiments. *Plant and Soil* 78:271-282. DOI: [10.1007/BF02450361](https://doi.org/10.1007/BF02450361)
- Cataldo D.A., Garland T.R., Wildung R.E. **1978**. Nickel in plants: I. Uptake kinetics using intact soybean seedlings. *Plant Physiology* 62(4):563-565. DOI: [10.1104/pp.62.4.563](https://doi.org/10.1104/pp.62.4.563)
- Chatterjee C., Dube B.K., Sinha P., Srivastava P. **2004**. Detrimental effects of lead phytotoxicity on growth, yield, and metabolism of rice. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 35(1-2):255-265. DOI: [10.1081/CSS-120027648](https://doi.org/10.1081/CSS-120027648)
- Chen C., Huang D., Liu J. **2009**. Functions and toxicity of nickel in plants: Recent advances and future prospects. *Clean Soil Air Water* 37(4-5):304-313. DOI: [10.1002/clen.200800199](https://doi.org/10.1002/clen.200800199)
- Chen L., Beiyuan J., Hu W., Zhang Z., Duan C., Cui Q., Zhu X., He H., Huang X., Fang L. **2022**. Phytoremediation of potentially toxic elements (PTEs) contaminated soils using alfalfa (*Medicago sativa* L.): A comprehensive review. *Chemosphere* 293: 133577. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2022.133577](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133577)
- Clemens S. **2001**. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* 212:475-486. DOI: [10.1007/s004250000458](https://doi.org/10.1007/s004250000458)
- Cokkizgin A., Cokkizgin H. **2010**. Effects of lead (PbCl₂) stress on germination of lentil (*Lens culinaris* Medic.) lines. *African Journal of Biotechnology* 9(50):8608-8612. DOI: [10.5897/AJB10.890](https://doi.org/10.5897/AJB10.890)

- Collin S., Baskar A., Geevarghese D., Syed Ali M., Bahubali P., Choudhary R., Lvov V., Tovar G., Senatov F., Koppala S. **2022**. Bioaccumulation of lead (Pb) and its effects in plants: A review. *Journal of Hazardous Materials Letters* 3, 100064. DOI: [10.1016/j.hazl.2022.100064](https://doi.org/10.1016/j.hazl.2022.100064)
- Das P.K., Kar M., Mishra D. **1978**. Nickel nutrition of plants: I. Effect of nickel on some oxidase activities during rice (*Oryza sativa* L.) on seed germination. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 90:225-233. DOI: [10.1016/S0044-328X\(78\)80235-9](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(78)80235-9)
- Doran J.C., Gunn B.V. **1987**. Treatments to promote seed germination in Australian acacias. In the series analytic: Australian acacias in developing countries, edited by J.W. Turnbull. *Proceedings of the International Workshop, Forestry Training Centre, Gympie, Qld., Australia, August 4-7, 1986*:57-63. http://www.aciar.gov.au/sites/default/files/legacy/node/13315/pr16_pdf_11161.pdf
- Duffus J.H. **2002**. Heavy metal – A meaningless term? *Pure and Applied Chemistry* 74:793-807. DOI: [10.1351/pac200274050793](https://doi.org/10.1351/pac200274050793)
- Duman F., Ozturk F. **2010**. Nickel accumulation and its effect on biomass, protein content and antioxidative enzymes in roots and leaves of watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.). *Journal of Environmental Sciences* 22(4):526-532. ISSN: 1001-0742 <http://pdf.sciencedirectassets.com/273588/1-s2.0-S1001074210X00055/>
- Ertekin E.N., Ertekin I., Bilgen M. **2020**. Effects of some heavy metals on germination and seedling growth of *Sorghum*. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg / KSU J. Agric. Nat.* 23(6):1608-1615. DOI: [10.18016/ksutarimdoga.v23i54846.722592](https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.v23i54846.722592)
- Evenari M. **1957**. The physiological action and biological importance of germination inhibitors. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 11:21-44. PMID: [13486465](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13486465/)
- Finch-Savage W.E., Leubner-Metzger G. **2006**. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171(3):501-523. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x)

- Foley M.E. **2001**. Seed dormancy: An update on terminology, physiological genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. *Weed Science* 49:305-317. DOI: [10.1614/0043-1745\(2001\)049](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2001)049)
- Freeman J.L., Persans M.W., Nieman K., Albrecht C., Peer W., Pickering I.J., Salt D.E. **2004**. Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators. *The Plant Cell* 16(8):2176-2191. DOI: [10.1105/tpc.104.023036](https://doi.org/10.1105/tpc.104.023036)
- Gajewska E., Sklodowska M., Slaba M., Mazur J. **2006**. Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots. *Biologia Plantarum* 50:653-659. DOI: [10.1007/s10535-006-0102-5](https://doi.org/10.1007/s10535-006-0102-5)
- Gajewska E., Sklodowska M. **2007**. Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. *Biometals* 20(1):27-36. DOI: [10.1007/s10534-006-9011-5](https://doi.org/10.1007/s10534-006-9011-5)
- Gajewska E., Sklodowska M. **2008**. Differential biochemical responses of wheat shoots and roots to nickel stress: antioxidative reactions and proline accumulation. *Plant Growth Regulation* 54:179-188. DOI: [10.1007/s10725-007-9240-9](https://doi.org/10.1007/s10725-007-9240-9)
- Garcia J.S., Gratão P.L., Azevedo R.A., Arruda M.A. **2006**. Metal contamination effects on sunflower (*Helianthus annuus* L.) growth and protein expression in leaves during development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(22):8623-8630. DOI: [10.1021/jf061593I](https://doi.org/10.1021/jf061593I)
- Gopal R., Rizvi A.H. **2008**. Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrient in radish. *Chemosphere* 70(9):1539-1544. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2007.08.043](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.08.043)
- Grison C. **2022**. Phytoremédiation : restauration des sols pollués par les végétaux. *Encyclopédie de l'Environnement*. <http://www.encyclopedie-environnement.org/sol/> ISSN 2555-0950
- Gul I., Manzoor M., Silvestre J., Rizwan M., Hina K., Kallerhoff J., Arshad M. **2019**. EDTA-assisted phytoextraction of lead and cadmium by pelargonium cultivars grown on

- spiked soil. *International Journal of Phytoremediation* 21(2):101-110. DOI: [10.1080/15226514.2018.1474441](https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1474441)
- Gupta D.K., Nicoloso F.T., Schetinger M.R., Rossato L.V., Pereira L.B., Castro G.Y., Srivastava S., Tripathi R.D. **2009**. Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown *Zea mays* seedlings under moderate lead stress. *Journal of Hazardous Materials* 172(1):479-484. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2009.06.141](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.06.141)
- Gupta D., Huang H., Yang X., Razafindrabe B., Inouhe M. **2010**. The detoxification of lead in *Sedum alfredii* H. is not related to phytochelatins but the glutathione. *Journal of Hazardous Materials* 177:437-444. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2009.12.052](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.12.052)
- Hadi F., Aziz T. **2015**. A mini review on lead (Pb) toxicity in plants. *Journal of Biology and Life Science* 6(2):91-101. DOI: [10.5296/jbpls.v6i2.7152](https://doi.org/10.5296/jbpls.v6i2.7152)
- Hall J.L. **2002**. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53(366):1-11. DOI: [10.1093/jexbot/53.366.1](https://doi.org/10.1093/jexbot/53.366.1)
- Hampp R., Ziegler H., Ziegler I. **1973**. Influence of lead ions on the activity of enzymes of reductive pentose phosphate pathway. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 164(5-6):588-595. DOI: [10.1016/S0015-3796\(17\)30736-9](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30736-9)
- Hart G., Koether M., McElroy T., Greipsson S. **2022**. Evaluation of chelating agents used in phytoextraction by switchgrass of lead contaminated soil. *Plants* 11(8):1012. DOI: [10.3390/plants11081012](https://doi.org/10.3390/plants11081012)
- Hassan M.U., Chattha M.U., Khan I., Chattha M.B., Aamer M., Nawaz M., Ali A., Khan M.A., Khan T.A. **2019**. Nickel toxicity in plants: reasons, toxic effects, tolerance mechanisms, and remediation possibilities – a review. *Environmental Science and Pollution Research* 26:12673-12688. DOI: [10.1007/s11356-019-04892-x](https://doi.org/10.1007/s11356-019-04892-x)
- Hayat J., Akodad M., Moumen A., Baghour M., Skalli A., Ezrari S., Belmalha S. **2020**. Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon* 6(11):e05609. DOI: [10.1016/j.heliyon.2020.e05609](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05609)

- Heller R., Esnault R., Lance C. **2004**. Physiologie végétale. Développement 6^{ème} édition. Editions Dunod, Paris, 384 pages. ISBN 978-2-10-048711-0
- Hermle S., Vollenweider P., Günthardt-Goerg M.S., McQuattie C.J., Matyssek R. **2007**. Leaf responsiveness of *Populus tremula* and *Salix viminalis* to soil contaminated with heavy metals and acidic rainwater. *Tree Physiology* 27(11):1517-1531. DOI: 10.1093/treephys/27.11.1517
- Homer F.A., Morrison R.S., Brooks R.R., Clemens J., Reeves R.D. **1991**. Comparative studies of nickel, cobalt, and copper uptake by some nickel hyperaccumulators of the genus *Alyssum*. *Plant and Soil* 138(2):195-205. <https://www.jstor.org/stable/42937507>
- Hopkins W.G. **2003**. Physiologie végétale. Traduction de la 2^{ème} édition américaine par S. Rambour, révision scientifique de C.M. Evrard. Editions De Boeck Université, Bruxelles, 514 pages. ISBN 2-7445-0089-5
- Islam E., Yang X., Li T., Liu D., Jin X., Meng F. **2007**. Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. *Journal of Hazardous Materials* 147(3):806-816. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2007.01.117
- Jagetiya B., Kumar S. **2020**. Phytoremediation of lead: A review. In: Gupta D., Chatterjee S., Walther C. (eds) *lead in plants and the environment. Radionuclides and heavy metals in the environment*. Springer, Cham, 171-202. DOI: 10.1007/978-3-030-21638-2_10
- Jiang W., Liu D. **2010**. Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L. *BMC Plant Biology* 10(40):8 p.. DOI: 10.1186/1471-2229-10-40
- Kabata-Pendias A., Pendias H. **2001**. Trace elements in soils and plants. Chapter 5: trace elements in plants. 3rd edition. CRC Press LLC, 88-113. ISBN: 0.8493-1575-1
- Kafle A., Timilsina A., Gautam A., Adhikari K., Bhattarai A., Aryal N. **2022**. Phytoremediation: mechanisms, plant selection and enhancement by natural and synthetic agents. *Environmental Advances* 8:100203. DOI: 10.1016/j.envadv.2022.100203

- Kanwal A., Farhan M., Sharif F., Hayyat M.U., Shahzad L., Ghafoor G.Z. **2020**. Effect of industrial wastewater on wheat germination, growth, yield, nutrients and bioaccumulation of lead. *Scientific Reports* 10(1):11361. DOI: [10.1038/s41598-020-68208-7](https://doi.org/10.1038/s41598-020-68208-7)
- Kopittke P.M., Asher C.J., Kopittke R.A., Menzies N.W. **2007**. Toxic effects of Pb²⁺ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environmental Pollution* 150(2):280-287. DOI: [10.1016/j.envpol.2007.01.011](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.01.011)
- Kowalczyk J., Borkowska-Burnecka J., Cieslak K. **2003**. Heavy metals accumulation in greenhouse tomatoes. *Acta Horticulturae* 613:57-60. DOI: [10.17660/ActaHortic.2003.613.5](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.613.5)
- Kozhevnikova A.D., Seregin I.V., Bystrova E.I., Belyaeva A.I., Kataeva M.N., Ivanov V.B. **2009**. The effects of lead, nickel, and strontium nitrates on cell division and elongation in maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology* 56:242-250. DOI: [10.1134/S1021443709020137](https://doi.org/10.1134/S1021443709020137)
- Kumar P., Dushenkov V., Motto H., Raskin I. **1995**. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science & Technology* 29(5):1232-1238. DOI: [10.1021/es00005a014](https://doi.org/10.1021/es00005a014)
- Kumar A., Jigyasu D.K., Kumar A., Subrahmanyam G., Mondal R., Shabnam A.A., Cabral-Pinto M.M., Malyan S.K., Chaturvedi A.K., Gupta D.K., Fagodiya R.K., Khan S.A., Bhatia A. **2021**. Nickel in terrestrial biota: comprehensive review on contamination, toxicity, tolerance and its remediation approaches. *Chemosphere* 275, 129996. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2021.129996](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129996)
- Kumar S., Wang M., Liu Y., Fahad S., Qayyum A., Jadoon S., Chen Y., Zhu G. **2022**. Nickel toxicity alters growth patterns and induces oxidative stress response in sweetpotato. *Front. Plant Sci.* 13, 1054924. DOI: [10.3389/fpls.2022.1054924](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1054924)
- Küpper H., Küpper F., Spiller M. **1996**. Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. *Journal of Experimental Botany* 47(2):259-266. DOI: [10.1093/jxb/47.2.259](https://doi.org/10.1093/jxb/47.2.259)

- Lane S.D., Martin E.S. **1977**. A histochemical investigation of lead uptake in *Raphanus sativus*. *The New Phytologist* 79(2):281-286. <https://www.jstor.org/stable/2433781>
- Lee S.Z., Chang L., Yang H.H., Chen C.M., Liu M.C. **1998**. Absorption characteristics of lead onto soils. *Journal of Hazardous Materials* 63(1):37-49. DOI: [10.1016/S0304-3894\(98\)00203-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(98)00203-9)
- Léon V., Rabier J., Notonier R., Barthelémy R., Moreau X., Bouraïma-Madjèbi S., Viano J., Pineau R. **2005**. Effects of three nickel salts on germinating seeds of *Grevillea exul* var. *rubiginosa*, an endemic serpentine proteaceae. *Annals of Botany* 95(4):609-618. DOI: [10.1093/aob/mci066j.biortech.2009.12.031](https://doi.org/10.1093/aob/mci066j.biortech.2009.12.031)
- Lin Y.C., Kao C.H. **2006**. Effect of excess nickel on starch mobilization in germinating rice grains. *Journal Plant Nutrition* 29(8):1405-1412. DOI: [10.1080/01904160600830225](https://doi.org/10.1080/01904160600830225)
- Liu D., Li T.Q., Jin X.F., Yang X.E., Islam E., Mahmood Q. **2008**. Lead induced changes in the growth and antioxidant metabolism of the lead accumulating and non-accumulating ecotypes of *Sedum alfredii*. *Journal of Integrative Plant Biology* 50(2):129-140. DOI: [10.1111/j.1744-7909.2007.00608.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00608.x)
- Lodhi S., Vadnere G., Sharma V., Usman M.R. **2017**. *Marrubium vulgare* L.: A review on phytochemical and pharmacological aspects. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology* 6(4):429-452. DOI: [10.5455/jice.20170713060840](https://doi.org/10.5455/jice.20170713060840)
- Maheshwari R., Dubey R.S. **2007**. Nickel toxicity inhibits ribonuclease and protease activities in rice seedlings: protective effects of proline. *Plant Growth Regulation* 51(3):231-243. ISSN: 0167-6903
- Maheshwari R., Dubey R.S. **2008**. Inhibition of ribonuclease and protease activities in germinating rice seeds exposed to nickel. *Acta Physiologiae Plantarum* 30:863-872. DOI: [10.1007/s11738-008-0192-0](https://doi.org/10.1007/s11738-008-0192-0)
- Maleva M.G., Nekrasova G.F., Malec P., Prasad M.N., Strzalka K. **2009**. Ecophysiological tolerance of *Elodea Canadensis* to nickel exposure. *Chemosphere* 77(3):392-398. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2009.07.024](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.07.024)

- Malkowski E., Kita A., Galas W., Karcz W., Kuperberg M. **2002**. Lead distribution in corn seedlings (*Zea mays* L.) and its effect on growth and the concentrations of potassium and calcium. *Plant Growth Regulation* 37:69-76. DOI: [10.1023/A:1020305400324](https://doi.org/10.1023/A:1020305400324)
- Marouf A., Raynaud J. **2007**. La botanique de A à Z : 1662 définitions. *Editions Dunod, Paris*, 342 pages. ISBN 978-2-10-0506385-5
- Mazliak P. **1998**. Physiologie végétale. Croissance et développement. *Editions Hermann, Paris*, 575 pages. ISBN 978-2-7056-6349-0
- Mench M., Schwitzguébel J.P., Schroeder P., Bert V., Gawronski S., Gupta S. **2009**. Assessment of successful experiments and limitations of phytotechnologies: contaminant uptake, detoxification and sequestration, and consequences for food safety. *Environ Sci Pollut Res Int* 16(7):876-900. DOI: [10.1007/s11356-009-0252-z](https://doi.org/10.1007/s11356-009-0252-z)
- Mench M., Lepp N., Bert V., Schwitzguébel J.P., Gawronski S., Schroeder P., Vangronsveld J. **2010**. Successes and limitations of phytotechnologies at field scale: outcomes, assessment and outlook from COST action 859. *Journal of Soils and Sediments* 10(6):1039-1070. DOI: [10.1007/s11368-010-0190-x](https://doi.org/10.1007/s11368-010-0190-x)
- Mesmar M.N., Jaber K. **1991**. The toxic effect of lead on seed germination, growth, chlorophyll and protein contents of wheat and lens. *Acta Biologica Hungarica* 42(4):331-344. PMID: [1841484](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1841484/)
- Michel J., Abd Rani N., Husain K. **2020**. A review on the potential use of medicinal plants from Asteraceae and Lamiaceae plant family in cardiovascular diseases. *Front Pharmacol* 11:852. DOI: [10.3389/fphar.2020.00852](https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00852)
- Mishra S., Srivastava S., Tripathi R.D., Kumar R., Seth C.S., Gupta D.K. **2006**. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere* 65(6):1027-1039. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2006.03.033](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.03.033)
- Mishra S., Bharagava R., More N., Yadav A., Zainith S., Mani S., Chowdhary P. **2019**. Heavy metal contamination: An alarming threat to environment and human health. *Springer Nature Singapore, R.C. Sobti et al. (eds.), Environmental Biotechnology : For sustainable future*. DOI: [10.1007/978-981-10-7284-0_5](https://doi.org/10.1007/978-981-10-7284-0_5)

- Mitra S., Chakraborty A.J., Tareq A.M., Emran T.B., Nainu F., Khusro A., Idris A.M., Khandaker M.U., Osman H., Alhumaydhi F.A., Simal Gandara J. **2022**. Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. *Journal of King Saud University - Science* 34(3):101865. DOI: [10.1016/j.jksus.2022.101865](https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101865)
- Morel J.L., Mench M., Guckert A. **1986**. Measurement of Pb²⁺, Cu²⁺ and Cd²⁺ binding with mucilage exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. *Biology and Fertility of Soils* 2:29-34. <https://dlwqtxts1xzle7.cloudfront.net/52616850/> © Springer-Verlag 1986
- Morot-Gaudry J.F., Lepiniec L., Prat R. **2021**. Biologie végétale. Croissance et développement 4^{ème} édition. *Editions Dunod, Paris, 274 pages*. ISBN 978-2-10-082358-1
- Mujeeb A., Iqbal M.Z., Shafiq M., Kabir M., Farooqi Z.R. **2019**. The toxic effect of various concentration of nickel on seed germination and growth of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *World Journal of Pharmaceutical and Medical Research* 5(3):58-63. ISSN: 2455-3301
- Mukherji S., Maitra P. **1977**. Growth and metabolism of germinating rice (*Oryza sativa* L.) seeds as influenced by toxic concentrations of lead. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 81(1):26-33. DOI: [10.1016/S0044-328X\(77\)80034-2](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(77)80034-2)
- Nakos G. **1979**. Fate of lead in the soil and its effects on *Pinus halepensis*. *Plant and Soil* 53:427-443. DOI: [10.1007/BF02140715](https://doi.org/10.1007/BF02140715)
- Nedjimi B., Souissi Z., Guit B., Daoud Y. **2020**. Differential effects of soluble salts on seed germination of *Marrubium vulgare* L. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 17:100250. DOI: [10.1016/j.jarmap.2020.100250](https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2020.100250)
- Osman H.E., Fadhlallah R.S. **2023**. Impact of lead on seed germination, seedling growth, chemical composition, and forage quality of different varieties of *Sorghum*. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences* 9:77-86. DOI: [10.1007/s43994-022-00022-5](https://doi.org/10.1007/s43994-022-00022-5)

- Page V., Feller U. **2005**. Selective transport of zinc, manganese, nickel, cobalt and cadmium in the root system and transfer to the leaves in young wheat plants. *Annals of Botany* 96(3):425-434. DOI: [10.1093/aob/mci189](https://doi.org/10.1093/aob/mci189)
- Pandey N., Sharma C.P. **2002**. Effect of heavy metals Co^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. *Plant Science* 163(4):753-758. DOI: [10.1016/S0168-9452\(02\)00210-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00210-8)
- Patra M., Bhowmik N., Bandopadhyay B., Sharma A. **2004**. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 52(3):199-223. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2004.02.009](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.02.009)
- 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(6):727-734. DOI: [10.1007/s001280069](https://doi.org/10.1007/s001280069)
- Piotrowska A., Bajguz A., Godlewska-Żylkiewicz B., Czerpak R., Kamińska M. **2009**. Jasmonic acid as modulator of lead toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). *Environmental and Experimental Botany* 66(3):507-513. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2009.03.019](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.03.019)
- Pourrut B., Shahid M., Dumat C., Winterton P., Pinelli E. **2011**. Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 213:113-136. DOI: [10.1007/978-1-4419-9860-6_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9860-6_4)
- Prasad D.D., Prasad A.R. **1987**. Altered δ -aminolevulinic acid metabolism by lead and mercury in germinating seedlings of Bajra (*Pennisetum typhoideum*). *Journal of Plant Physiology* 127(3-4):241-249. DOI: [10.1016/S0176-1617\(87\)80143-8](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(87)80143-8)
- Psaras G.K., Manetas Y. **2001**. Nickel localization in seeds of the metal hyperaccumulator *Thlaspi pindicum* Hausskn. *Annals of Botany* 88(3):513-516. DOI: [10.1006/anbo.2001.1470](https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1470)

- Qufei L., Fashui H. **2009**. Effects of Pb²⁺ on the structure and function of photosystem II of *Spirodela polyrrhiza*. *Biological Trace Element Research* 129(1-3):251-260. DOI: [10.1007/s12011-008-8238-8](https://doi.org/10.1007/s12011-008-8238-8)
- Qureshi M.I., Abdin M.Z., Qadir S., Iqbal M. **2007**. Lead-induced oxidative stress and metabolic alterations in *Cassia angustifolia* Vahl. *Biologia Plantarum* 51:121-128. DOI: [10.1007/s10535-007-0024-x](https://doi.org/10.1007/s10535-007-0024-x)
- Rahman H., Sabreen S., Alam S., Kawai S. **2005**. Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution. *Journal of Plant Nutrition* 28(3):393-404. DOI: [10.1081/PLN-200049149](https://doi.org/10.1081/PLN-200049149)
- Rashid A., Camm E.L., Ekramoddoullah K.M. **1994**. Molecular mechanism of action of Pb²⁺ and Zn²⁺ on water oxidizing complex of photosystem II. *FEBS Letters* 350:296-298. <https://pdf.sciencedirectassets.com/271102/1-s2.0-S0014579300X04772>
- Rathor G., Chopra N., Adhikari T. **2014**. Effect of variation in nickel concentration on growth of maize plant: a comparative over view for pot and Hoagland culture. *Research Journal of Chemical Sciences* 4(10):30-32. ISSN: 2231-606X
- Raychaudhuri S.S., Pramanick P., Talukder P., Basak A. **2021**. Chapter 6 – Polyamines, metallothioneins, and phytochelatins-natural defense of plants to mitigate heavy metals. In *Bioactive Natural Products, Edited by Attar-ur-Rahman. Studies in Natural Products Chemistry* 69:227-261. DOI: [10.1016/B978-0-12-819487-4.00006-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819487-4.00006-9)
- 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. DOI: [10.1093/aob/mcm119](https://doi.org/10.1093/aob/mcm119)
- Romanowska E., Igamberdiev A.U., Parys E., Gardeström P. **2002**. Stimulation of respiration by Pb²⁺ in detached leaves and mitochondria of C₃ and C₄ plants. *Physiologia Plantarum* 116:148-154. ISSN 0031-9317

- 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. DOI: [10.1016/s0045-6535\(99\)00303-3](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(99)00303-3)
- Rucińska-Sobkowiak R., Nowaczyk G., Krzesłowska M., Rabęda I., Jurga S. **2013**. Water status and water diffusion transport in lupine roots exposed to lead. *Environmental and Experimental Botany* 87:100-109. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2012.09.012](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.09.012)
- Sachan P., Lal N. **2017a**. An overview of nickel (Ni²⁺) essentiality, toxicity and tolerance strategies in plants. *Asian Journal of Biology* 2(4):1-15. DOI: [10.9734/AJOB/2017/33931](https://doi.org/10.9734/AJOB/2017/33931)
- Sachan P., Lal N. **2017b**. Nickel essentiality and toxicity in plants. *Indian Farmer* 4(8):618-622. ISSN 2394-1227
- Sachan P., Lal N. **2019**. Molecular mechanisms of nickel (Ni²⁺) homeostasis in plants: uptake, tolerance and hyperaccumulation. Chapter 12. In book: *Environmental toxicology and bioremediation*. Edited by: Abid Ali Khan M.M., Abid M., Verma D. and Maheshwari R.K. Published by: Discovery Publishing House Pvt. Ltd., New Delhi (India). pp. 178-196. ISBN: 978-93-86841
- Saxena G., Purchase D., Mulla S.I., Saratale G., Bharagava R. **2019**. Phytoremediation of heavy metal-contaminated sites: Eco-environmental concerns, field studies, sustainability issues, and future prospects. *Springer Nature Switzerland AG, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 62 pages. DOI: [10.1007/398_2019_24](https://doi.org/10.1007/398_2019_24)
- Sędzik M., Smolik B., Krupa-Małkiewicz M. **2015**. Effect of lead on germination and some morphological and physiological parameters of 10-day-old seedlings of various plant species. *Environmental Protection and Natural Resources* 26(3):22-27. DOI: [10.1515/oszn-2015-0009](https://doi.org/10.1515/oszn-2015-0009)
- Seneviratne M., Rajakaruna N., Rizwan M., Madawala H.M., Ok Y.S., Vithanage M. **2017**. Heavy metal-induced oxidative stress on seed germination and seedling development: A critical review. *Environmental Geochemistry and Health* 41:1813-1831. DOI: [10.1007/s10653-017-0005-8](https://doi.org/10.1007/s10653-017-0005-8)

- Sengar R.S., Gautam M., Sengar R.S., Garg S.K., Sengar K., Chaudhary R. **2009**. Lead stress effects on physiobiochemical activities of higher plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 196:73-93. DOI: [10.1007/978-0-387-78444-1_3](https://doi.org/10.1007/978-0-387-78444-1_3)
- Seregin I.V., Ivanov V.B. **2001**. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 48(4):523-544. DOI: [10.1023/A:1016719901147](https://doi.org/10.1023/A:1016719901147)
- Seregin I.V., Kozhevnikova A.D., Kazyumina E.M., Ivanov V.B. **2003**. Nickel toxicity and distribution in maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology* 50:711-717. DOI: [10.1023/A:1025660712475](https://doi.org/10.1023/A:1025660712475)
- Seregin I.V., Shpigun L.K., Ivanov V.B. **2004**. Distribution and toxic effects of cadmium and lead on maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology* 51(4):525-533. DOI: [10.1023/B:RUPP.0000035747.42399.84](https://doi.org/10.1023/B:RUPP.0000035747.42399.84)
- Seregin I.V., Kozhevnikova A.D. **2005**. Distribution of cadmium, lead, nickel, and strontium in imbibing maize caryopses. *Russian Journal of Plant Physiology* 52:565-569. DOI: [10.1007/s11183-005-0084-8](https://doi.org/10.1007/s11183-005-0084-8)
- Seregin I.V., Kozhevnikova A.D. **2006**. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 53(2):257-277. DOI: [10.1134/S1021443706020178](https://doi.org/10.1134/S1021443706020178)
- Sharma P., Dubey R.S. **2005**. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(1):35-52. DOI: [10.1590/S1677-04202005000100004](https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100004)
- Sharma B., Dangi A., Shukla P. **2018**. Contemporary enzyme based technologies for bioremediation: A review. *J Environ Manage* 15(210):10-22. DOI: [10.1016/j.envman.2017.12.075](https://doi.org/10.1016/j.envman.2017.12.075)
- Shukla R., Gopal R. **2009**. Excess nickel alters growth, metabolism, and translocation of certain nutrients in potato. *Journal of Plant Nutrition* 32(6):1005-1014. DOI: [10.1080/01904160902872800](https://doi.org/10.1080/01904160902872800)

- Shweti, Kumar A., Verma J.S. **2018**. Effects of nickel chloride on germination and seedling growth of different wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.) cultivars. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7(4):2227-2234. ISSN: 2278-4136
- Singh S., Saxena R., Pandey K., Bhatt K., Sinha S. **2004**. Response of antioxidants in sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown on different amendments of tannery sludge: its metal accumulation potential. *Chemosphere* 57(11):1663-1673. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2004.07.049](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.07.049)
- Singh R., Tripathi R.D., Dwivedi S., Kumar A., Trivedi P.K., Chakrabarty D. **2010**. Lead bioaccumulation potential of an aquatic macrophyte *Najas indica* are related to antioxidant system. *Bioresource Technology* 101:3025-3032. DOI: [10.1016/j.biortech.2009.12.031](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.031)
- Sobkowiak R.R. **2016**. Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. *Acta Physiologiae Plantarum* 38:257. DOI: [10.1007/s11738-016-2277-5](https://doi.org/10.1007/s11738-016-2277-5)
- Sreekanth T.V., 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(5):1129-1140. DOI: [10.1007/s13762-013-0245-9](https://doi.org/10.1007/s13762-013-0245-9)
- Stefanov K., Seizova K., Popova I., Petkov V., Kimenov G., Popov S. **1995**. Effect of lead ions on the phospholipid composition in leaves of *Zea mays* and *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Plant Physiology* 147(2):243-246. DOI: [10.1016/S0176-1617\(11\)81511-7](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81511-7)
- Tomulescu I.M., Radovicu E.M., Merca V.V., Tuduce A.D. **2004**. Effect of copper, zinc and lead and their combinations on the germination capacity of two cereals. *Acta Agraria Debreceniensis* 15:39-42. DOI: [10.34101/actaagrar/15/3355](https://doi.org/10.34101/actaagrar/15/3355)
- Torres G.N., Camargos S.L., Dos Santos Weber O.L., Benedet Maas K.D., Pereira Scaramuzza W.L. **2016**. Growth and micronutrient concentration in maize plants under nickel and lime applications. *Agronomia . Revista Caatinga* 29(4):796-804. DOI: [10.1590/1983-21252016v29n403rc](https://doi.org/10.1590/1983-21252016v29n403rc)
- van Assche F., Clijsters H. **1990**. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant, Cell & Environment* 13(3):195-206. DOI: [10.1111/j.1365-3040.1990.tb01304.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1990.tb01304.x)

- Verma S., Dubey R.S. **2003**. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science* 164:645-655. DOI: [10.1016/S0168-9452\(03\)00022-0](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00022-0)
- Verma S., Kuila A. **2019**. Bioremediation of heavy metals by microbial process. *Environmental Technology & Innovation* 14, 100369. DOI: [10.1016/j.eti.2019.100369](https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100369)
- Vyas M.K. **2017**. Changes in seedling growth and biochemical contents in *Abrus precatorius* L. under nickel treatment. *UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences* 5(3):14-18. DOI: [10.20510/ukjpb/5/i3/155961](https://doi.org/10.20510/ukjpb/5/i3/155961)
- Walker C.D., Graham R.D., Madison J.T., Cary E.E., Welch R.M. **1985**. Effects of Ni deficiency on some nitrogen metabolites in cowpeas (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Plant Physiology* 79(2):474-479. DOI: [10.1104/pp.79.2.474](https://doi.org/10.1104/pp.79.2.474)
- Wang S.T., He X.J., An R.D. **2010**. Responses of growth and antioxidant metabolism to nickel toxicity in *Luffa cylindrica* seedlings. *Journal of Animal & Plant Science* 7(2):810-821. ISSN 2071-7024 <http://www.bioscience.elewa.org/JAPS>
- Weckbecker G., Cory J.G. **1988**. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters* 40(3):257-264. DOI: [10.1016/0304-3835\(88\)90084-5](https://doi.org/10.1016/0304-3835(88)90084-5)
- Wierzbicka M., Antosiewicz D. **1993**. How lead can easily enter the food chain – a study of plant roots. *Science of The Total Environment* 134(supplement 1):423-429. DOI: [10.1016/S0048-9697\(05\)80043-9](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(05)80043-9)
- Wood B.W., Reilly C.C., Nyczepir A.P. **2006**. Field deficiency of nickel in trees: symptoms and causes. *Acta Horticulturae* 721:83-98. DOI: [10.17660/ActaHortic.2006.721.10](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.721.10)
- Xia C., Hong L., Yang Y., Yanping X., Xing H., Gang D. **2019**. Protein changes in response to lead stress of lead-tolerant and lead-sensitive industrial hemp using SWATH technology. *Genes* 10(396):16 pages. DOI: [10.3390/genes10050396](https://doi.org/10.3390/genes10050396)

- Xiong Z., Yang J., Zhang K. **2021**. Effects of lead pollution on germination and seedling growth of turfgrass, *Cynodon dactylon*. *Pakistan Journal of Botany* 53(6):2003-2009. DOI: [10.30848/PJB2021-6\(6\)](https://doi.org/10.30848/PJB2021-6(6))
- Yabrir B. **2019**. Essential oil of *Marrubium vulgare*: Chemical composition and biological activities. A review. *Natural Product Sciences* 25(2):81-91. DOI: [10.20307/nps.2019.25.2.81](https://doi.org/10.20307/nps.2019.25.2.81)
- Yadav S.K. **2010**. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African Journal of Botany* 76(2):167-179. DOI: [10.1016/j.sajb.2009.10.007](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2009.10.007)
- Yadav K.K., Gupta N., Kumar A., Reece L.M., Singh N., Rezania S., Khan S.A. **2018**. Mechanistic understanding and holistic approach of phytoremediation: A review on application and future prospects. *Ecological Engineering* 120:274-298. DOI: [10.1016/j.ecoleng.2018.05.039](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.05.039)
- Yahaghi Z., Shirvani M., Nourbakhsh F., Pueyo J.J. **2019**. Uptake and effects of lead and zinc on alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth: Role of plant growth promoting bacteria. *South African Journal of Botany* 124:573-582. DOI: [10.1016/j.sajb.2019.01.006](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.01.006)
- Yang X., Baligar V.C., Martens D.C., Clark R.B. **1996**. Plant tolerance to nickel toxicity. II. Nickel effects on influx and transport of mineral nutrients in four plant species. *Journal of Plant Nutrition* 19(2):265-279. DOI: [10.1080/01904169609365121](https://doi.org/10.1080/01904169609365121)
- Yang Y.Y., Jung J.Y., Song W.Y., Suh H.S., Lee Y. **2000**. Identification of rice varieties with high tolerance or sensitivity to lead and characterization of the mechanism of tolerance. *Plant Physiology* 124(3):1019-1026. DOI: [10.1104/pp.124.3.1019](https://doi.org/10.1104/pp.124.3.1019)
- Yang Y., Wei X., Lu J., You J., Wang W., Shi R. **2010**. Lead-induced phytotoxicity mechanism involved in seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73(8):1982-1987. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2010.08.041](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.08.041)

- Yang Q.S., Zhao Y. **2013**. Effect of Co^{2+} and Ni^{2+} on seed germination and seedling growth of oilseed rape. *Advanced Materials Research* 807-809:976-979. DOI: [10.4028/www.scientific.net/AMR.807-809.976](https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.807-809.976)
- Ye Z.H., Baker A.J., Wong M.H., Willis A.J. **1997**. Zinc, lead and cadmium tolerance, uptake and accumulation by *Typha latifolia* L. *New Phytologist* 136(3):469-480. DOI: [10.1046/j.1469-8137.1997.00759.x](https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00759.x)
- Zhang Y., Deng B., Li Z. **2018**. Inhibition of NADPH oxidase increases defense enzyme activities and improves maize seed germination under Pb stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 158:187-192. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2018.04.028](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.04.028)
- Zhao F., Chen Y.P., Salmaki Y., Drew B., Wilson T., Scheen A.C., Celep F., Bräuchler C., Bendiksby M., Wang Q., Min D.Z., Peng H., Olmstead R., Li B., Xiang C.L. **2021**. An updated tribal classification of Lamaiaceae based on plastome phylogenomics. *BMC Biology* 19,2 (2021). DOI: [10.1186/s12915-020-00931-z](https://doi.org/10.1186/s12915-020-00931-z)
- Zidat S. **2016**. Imyan n Tensawt - Plantes de Kabylie / herbier imagé des plantes de Kabylie. Editions Innexsys, Luxembourg 212 pages. ISBN 978-99959-0-205-6
- Zulfiqar U., Farooq M., Hussain S., Maqsood M., Hussain M., Ishfaq M., Ahmad M., Anjum M.Z. **2019**. Lead toxicity in plants: impacts and remediation. *Journal of Environmental Management* 250:109557. DOI: [10.1016/j.envman.2019.109557](https://doi.org/10.1016/j.envman.2019.109557)

RÉSUMÉ

On s'est fixé comme objectifs d'évaluer et de comparer les effets que risquent d'induire deux éléments traces métalliques, le plomb et le nickel, sur la germination des graines de *Marrubium vulgare* L., ainsi que sur les premiers stades de croissance et de développement des plantules. Ces deux éléments testés à des concentrations variées (100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm), ont été utilisés sous forme de nitrate de plomb ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) pour ce qui est de l'élément Pb et sous forme de sulfate de nickel (NiSO_4) pour ce qui est de l'élément Ni.

Les résultats obtenus montrent que le Pb et le Ni ne modifient en rien le pouvoir germinatif des graines et ce quel que soit la concentration testée. Les taux maximums de germination atteints culminent à hauteur de ceux des témoins. Cependant, la croissance des plantules résultantes est fortement influencée par l'effet toxique induit par notamment l'utilisation du nickel par rapport au plomb. En effet, les mesures biométriques des racines et des hypocotyles montrent que l'effet toxique du nickel s'installe dès la concentration de 100 ppm, par contre celui relatif au plomb ne s'installe qu'au-delà de 200 ppm. Par ailleurs, les contenus protéiniques des plantules indiquent une baisse notable dès une application de 200 ppm en Ni et de 300 ppm en Pb.

Après transfert des plantules en pots, la suppression du stress métallique imposé au préalable aux graines en phase de germination, a permis le développement d'un 1^{er} axe feuillé chez les prétraités uniquement au Pb, quasi absent chez les prétraités au Ni.

Ces résultats montrent que si le stade germinatif des graines n'est pas influencé par un stress métallique, les stades ultérieurs relatifs à la croissance des plantules y sont sensibles. Aussi, le Ni s'est révélé plus toxique que le Pb par rapport à la croissance des plantules de *Marrubium vulgare* L.

Mots-clés : *Marrubium vulgare* L ; plomb ; nickel ; germination ; mesures biométriques ; statut hydrique ; protéines.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate and compare the potential effects of two trace metals, lead and nickel, on the germination of *Marrubium vulgare* L. seeds, and on the early growth and development of seedlings. These two elements, tested at various concentrations (100, 200, 300, 400, 500 and 600 ppm) were used in the form of lead nitrate ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) for the lead element and nickel sulfate (NiSO_4) for the nickel element.

The results show that lead and nickel have no effect on seed germinability, whatever the concentration tested. The maximum germination rates achieved were equivalent to those of the controls. However, the growth of the resulting seedlings is strongly influenced by the toxic effect induced by the use of nickel versus lead. In fact, biometric measurements of roots and hypocotyls show that the toxic effect of nickel begins at a concentration of 100 ppm, whereas that of lead only begins above 200 ppm. In addition, the protein content of seedlings showed a significant drop at 200 ppm Ni and 300 ppm Pb.

After transferring the seedlings to pots, the removal of the metal stress previously imposed on the germinating seeds enabled the development of a leafy first axis in Pb-only pretreated plants, which was virtually absent in Ni-pretreated plants.

These results show that while the germinative stage of seeds is not influenced by metal stress, later stages of seedling growth are sensitive. Nickel was more toxic than lead to the growth of *Marrubium vulgare* L. seedlings.

Keywords: *Marrubium vulgare* L. ; lead ; nickel ; germination ; biometric analyses ; water status ; protein.

