

Réf : .....

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

## **MASTER**

### *Thème*

**Étude des effets du cadmium et du chrome sur  
l'efficacité germinative des graines de *Marrubium  
vulgare* L., ainsi que sur les premiers stades de la  
croissance et de développement des jeunes  
plantules.**

Présenté par :

**Zerarga Asma & Bouanani Kheira**

Soutenu le : 18 Juin 2023

Devant le jury composé de :

Mr	<i>Dadach M.</i>	MCA	Président
Mr	<i>Benadjaoud A.</i>	MCA	Encadreur
Mme	<i>Benhamiche-Hanifi S.</i>	MCA	Examineur

**Année universitaire : 2022 / 2023**

# REMERCIEMENTS

Nous présentons nos sincères remerciements à toutes les personnes qui nous ont aidés dans l'élaboration de ce mémoire de recherche :

M. Benadjaoud Ali, notre promoteur de mémoire avec sa gentillesse, sa disponibilité et ses précieux conseils et orientations voire même son soutien moral inéluctable.

M. Dadach Mohammed, pour son aide, ses explications et ses conseils.

Mme. Benhamiche-Hanifi Samira, pour avoir acceptée d'examiner ce travail.

Enfin, l'ensemble du personnel technique du laboratoire de recherche en écologie et environnement de l'université de Bejaia, qui nous ont bien reçus et accueillis.

---

## Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents,

Eux qui sont ce que j'ai de plus cher au monde,

À tout la famille ZERARGA

A ma binôme pour son aide et son sérieux

Ainsi que toutes les personnes qui m'ont soutenu de près ou de loin pour  
l'élaboration de ce mémoire.

ZERARGA Asma.

## Dédicace

*C'est avec fierté que. Je dédie ce travail :*

*À ma chère mère*

*À mon cher père*

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs, que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.*

*À mon seul et unique frère **Larbi** mon support dans la vie, le plus tendre des frères ainsi sa chère femme **Sassa**.*

*À mes chères deux petites sœurs **Ikhlas** et **Hanane** pour leur soutien moral tout au long de mes études.*

*À ma très chère grande sœur **Djouhra** et son mari **Karim** qui m'avez toujours soutenue et encouragée.*

*À mes deux petits anges **Cerine** et **Aymen**.*

*À ma binôme qui a fait preuve de sérieux et de détermination et d'une volonté inébranlable **Asma***

*A toute ma famille.*

***Bouanani kheira***

---

<b>%</b>	Pourcentage
<b>°</b>	Degré
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>±</b>	Plus ou moins
<b>[ ]</b>	Concentration
<b>λ</b>	Longueur d'onde
<b>μg</b>	Microgramme
<b>μl</b>	Microlitre
<b>μM</b>	Micromolaire
<b>ABA</b>	Acide abscissique
<b>BSA</b>	Bovine Sérum Albumine
<b>Cd</b>	Cadmium
<b>Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></b>	Nitrate de cadmium
<b>Cr</b>	Chrome
<b>ETM</b>	Élément trace métallique
<b>Fig.</b>	Figure
<b>GA</b>	Acide gibbérellique
<b>h</b>	Heure
<b>HSP</b>	Protéines de choc thermique
<b>HAP</b>	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
<b>K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub></b>	Potassium dichromate
<b>L.</b>	Linné
<b>LEA</b>	Late Embryogenesis Abundant
<b>mM</b>	Millimolaire
<b>mn</b>	Minute
<b>PF</b>	Poids frais
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène
<b>PS</b>	Poids sec
<b>ppm</b>	Parties par Million
<b>ROS</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>Tab.</b>	Tableau
<b>Tris-HCl</b>	Hydroxyméthyl aminométhane hydrochloride
<b>vs</b>	<i>Versus</i>

---

<b>I. Introduction</b>	<b>01</b>
<b>II. Analyse Bibliographique</b>	<b>03</b>
<b>II.1. <i>Marrubium vulgare</i> L.</b>	<b>03</b>
<b>II.1.1. Position systématique et étymologie</b>	<b>03</b>
<b>II.1.2. Distribution et habitats</b>	<b>04</b>
<b>II.1.3. Description botanique</b>	<b>04</b>
<b>II.1.4. Ecologie</b>	<b>05</b>
<b>II.1.5. Composition phytochimique</b>	<b>06</b>
<b>II.1.6. Applications</b>	<b>08</b>
<b>II.2. De la graine au développement d'une plantule</b>	<b>09</b>
<b>II.2.1. Structure des graines</b>	<b>09</b>
<b>II.2.2. Maturation des graines</b>	<b>10</b>
<b>II.2.3. Dormance</b>	<b>10</b>
<b>II.2.3.1. Définitions et caractéristiques</b>	<b>10</b>
<b>II.2.3.2. Rôles des téguments de la graine</b>	<b>11</b>
<b>II.2.3.3. Contrôle hormonal</b>	<b>11</b>
<b>II.2.4. Germination des graines</b>	<b>12</b>
<b>II.2.4.1. Imbibition et événements métaboliques associés</b>	<b>12</b>
<b>II.2.4.2. Effets de l'équilibre hormonal et mobilisation des réserves</b>	<b>13</b>
<b>II.2.5. Développement de la pousse feuillée</b>	<b>14</b>
<b>II.3. Eléments traces métalliques et phytoremédiation</b>	<b>14</b>
<b>II.3.1. Eléments traces métalliques</b>	<b>15</b>
<b>II.3.1.1. Définition</b>	<b>15</b>
<b>II.3.1.2. Origine</b>	<b>15</b>
<b>II.3.1.3. Toxicité liée aux éléments traces métalliques</b>	<b>15</b>
<b>II.3.2. Phytoremédiation</b>	<b>16</b>
<b>II.3.2.1. Définition</b>	<b>16</b>
<b>II.3.2.2. Procédés utilisés en phytoremédiation</b>	<b>16</b>
<b>II.3.2.3. Types de plantes adaptées à la phytoremédiation</b>	<b>17</b>
<b>II.3.2.4. Limites de la phytoremédiation</b>	<b>18</b>
<b>II.4. Application au cadmium / chrome</b>	<b>18</b>
<b>II.4.1. Cadmium</b>	<b>18</b>
<b>II.4.1.1. Effets sur la germination</b>	<b>18</b>

---

II.4.1.2. Effets sur la croissance	19
II.4.1.3. Réponses apportées à la phytotoxicité du cadmium	20
II.4.1.4. Phytoremédiation appliquée au cadmium	21
II.4.2. Chrome	21
II.4.2.1. Effets sur la germination	21
II.4.2.2. Effets sur la croissance	21
II.4.2.3. Réponses apportées à la phytotoxicité du chrome et phytoremédiation	23
<b>III. Matériel &amp; Méthodes</b>	<b>25</b>
III.1. Matériel	25
III.1.1. Matériel végétal	25
III.1.1.1. Origine des graines	25
III.1.1.2. Traitement des graines	26
III.1.1.3. Mise à germination des graines	26
III.1.1.4. Plantules issues des germinations	27
III.1.1.5. Tests d'acclimatation	27
III.1.2. Préparation des solutions métalliques	28
III.1.2.1. Solution de Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	28
III.1.2.2. Solution de K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	29
III.2. Méthodes	29
III.2.1. Méthodes appliquées à la germination	29
III.2.1.1. Pourcentages cumulés de germination	29
III.2.1.2. Pourcentages finaux de germination	29
III.2.1.3. Temps moyens de germination	30
III.2.2. Mesures biométriques	30
III.2.3. Teneur en eau	30
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	31
III.2.4.4. Courbe étalon	31
<b>IV. Résultats &amp; Discussion</b>	<b>33</b>
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 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$	33
IV.1.1.2. Pourcentages cumulés de germination des graines traitées au $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	34
IV.1.1.3. Pourcentages finaux de germination des graines traitées au $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$	35
IV.1.1.4. Pourcentages finaux de germination des graines traitées au $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	36
IV.1.1.5. Temps moyens de germination des graines traitées au $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$	37
IV.1.1.6. Temps moyens de germination des graines traitées au $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	37
IV.1.1.7. Effets sur la germination des traitements au cadmium vs chrome	38
IV.1.2. Cinétique de la longueur racinaire au cours de la germination	40
IV.1.2.1. Longueur racinaire des traités au $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$	40
IV.1.2.2. Longueur racinaire des traités au $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	41
IV.1.2.3. Effets sur la longueur racinaire des traitements au cadmium vs chrome	42
IV.1.3. Longueur des axes hypocotylés	44
IV.1.3.1. Longueur des axes hypocotylés des traités au $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$	44
IV.1.3.2. Longueur des axes hypocotylés des traités au $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	45
IV.1.3.3. Effets sur la longueur des hypocotyles des traitements au cadmium vs chrome	45
IV.1.4. Contenu en protéines	47
IV.1.4.1. Protéines des traités au $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$	47
IV.1.4.2. Protéines des traités au $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	48
IV.1.4.3. Effets sur le contenu protéinique des traitements au cadmium vs chrome	48
IV.1.5. Cinétique de la longueur du 1 <sup>er</sup> axe feuillé	49
IV.1.5.1. Longueur du 1 <sup>er</sup> axe feuillé des traités au $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$	49
IV.1.5.2. Longueur du 1 <sup>er</sup> axe feuillé des traités au $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	51
IV.1.5.3. Longueur du 1 <sup>er</sup> axe feuillé des traités au cadmium vs chrome	51
IV.2. Discussion	53
IV.2.1. Germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L.	53
IV.2.2. Mesures biométriques des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L.	55
IV.2.3. Protéines des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L.	57
IV.2.4. Développement du 1 <sup>er</sup> axe feuillé des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L.	58
V. Conclusion	62
VI. Références bibliographiques	64



N°	Titre	Page
01	Aire de répartition de <i>Marrubium vulgare</i> L. En vert, son aire de répartition native et en violet, son aire d'introduction.	04
02	<i>Marrubium vulgare</i> L. : (a) plante entière et feuilles ; (b) fleurs ; (c) fruit en akène ; (d) graines (Nedjimi et al. 2020).	05
03	Optimum écologique de <i>Marrubium vulgare</i> L. par rapport aux caractéristiques du sol et vis-à-vis du climat.	06
04	Structure chimique de la marrubiine (a), de l'acide marrubique (b) et du marrubénol (c) issus des extraits de <i>Marrubium vulgare</i> L. (Ačimovič et al. 2020).	07
05	Caractérisation histochimique des différents types de trichomes glandulaires retrouvés au niveau des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i> L. (A), trichome pelté ; (B), trichome capité de type I à une seule cellule glandulaire (gc) ; (C), trichome capité de type II à deux cellules glandulaires ; (D), trichome capité de type III à quatre cellules glandulaires (Haratym and Weryszko-Chmielewska, 2017).	07
06	Représentation schématique des différentes étapes de l'embryogenèse aboutissant à la formation d'un embryon mature. Source : Goldberg et al. 1994.	09
07	Balance hormonale et effets antagonistes exercés sur la dormance et la germination par l'acide abscissique (ABA) et l'acide gibbérellique (GA). Source : Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006.	11
08	Evolution de la quantité d'eau au cours des trois phases de la germination et les principales activités métaboliques associées. Source : Mirmazloum et al. 2020.	12
09	Les deux types de germination des graines, épigée et hypogée.	14
10	Sources majeures des éléments traces métalliques et leurs conséquences agro écologiques (sols et plantes). Source : Srivastava et al. 2017.	16
11	Différentes techniques utilisées en phytoremédiation. Source : Wechtler (2020).	17
12	Absorption, translocation, accumulation et effets inhibiteurs du cadmium sur la croissance et le développement des plantes. Source : Haider et al. 2021.	19

- 
- 13** Les acides organiques libérés des amendements et les interactions microbiennes favorisent la phytoextraction du Cr(VI) puisé du sol. Source : **Das et al. 2021.** **24**
- 14** Carte Google positionnant le lieu de récolte des fruits de *Marrubium vulgare* L. Carte préparée par **Dadach M. (2023).** **25**
- 15** Désinfection de surface des graines de *Marrubium vulgare* L. par une solution d'eau de javel à 5% (v/v) (photo de gauche), suivi d'un rinçage puis séchage sur du papier absorbant (photo de droite). **26**
- 16** Plantules de *Marrubium vulgare* L. de 20 jours, qui se sont développées à l'issue de la germination des graines et qui vont servir aux différentes expérimentations. C'est uniquement le lot des plantules témoins qui a été représenté dans cette figure. **27**
- 17** Plantules de *Marrubium vulgare* L. de 10 jours de différents lots, repiquées en pots en plastique pour suivre le développement des 1ers axes feuillés. **28**
- 18** Présentation des cristaux de nitrate de cadmium tétrahydraté et ses quelques caractéristiques physico-chimiques. **28**
- 19** Présentation des cristaux de dichromate de potassium et ses quelques caractéristiques physico-chimiques. **29**
- 20** Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de BSA (sérum albumine bovine) de 1 mg/mL (densité optique lue à  $\lambda = 595$  nm). **32**
- 21** Evolution des % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> [50, 100, 150 et 200 ppm] en fonction du temps. **33**
- 22** Evolution des % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> [50, 100, 150 et 200 ppm] en fonction du temps. **34**
- 23** Effets des différentes concentrations en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> [50, 100, 150 et 200 ppm] sur les % cumulés moyens finaux de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm]. Ces données sont enregistrées au 20<sup>ème</sup> jour après la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines. **35**
- 24** Effets des différentes concentrations en K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> [50, 100, 150 et 200 ppm] sur les % cumulés moyens finaux de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm]. Ces données sont enregistrées au 20<sup>ème</sup> jour après la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines. **36**

- 
- 25** Effets des différentes concentrations en  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  [50, 100, 150 et 200 ppm] **37**  
sur les temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L.  
comparativement aux graines témoins [0 ppm].
- 26** Effets des différentes concentrations en  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  [50, 100, 150 et 200 ppm] **38**  
sur les temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L.  
comparativement aux graines témoins [0 ppm].
- 27** Evolution des longueurs racinaires moyennes des plantules de *Marrubium* **41**  
*vulgare* L. issues des graines non traitées [0 ppm] et des graines traitées par  
différentes concentrations en  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  [50, 100, 150 et 200 ppm] en  
fonction du temps.
- 28** Evolution des longueurs racinaires moyennes des plantules de *Marrubium* **42**  
*vulgare* L. issues des graines non traitées [0 ppm] et des graines traitées par  
différentes concentrations en  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  [50, 100, 150 et 200 ppm] en fonction  
du temps.
- 29** Effets des différentes concentrations en  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  [50, 100, 150 et 200 ppm] **44**  
sur les longueurs des axes hypocotylés, en sus des longueurs racinaires, des  
plantules de *Marrubium vulgare* L. comparativement à ceux respectivement  
des témoins [0 ppm]. Les mesures ont été réalisées au 20<sup>ème</sup> jour depuis la  
1<sup>ère</sup> mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 9  
mesures différentes  $\pm$  intervalle de confiance.
- 30** Effets des différentes concentrations en  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  [50, 100, 150 et 200 ppm] **45**  
sur les longueurs des axes hypocotylés, en sus des longueurs racinaires, des  
plantules de *Marrubium vulgare* L. comparativement à ceux respectivement  
des témoins [0 ppm]. Les mesures ont été réalisées au 20<sup>ème</sup> jour depuis la  
1<sup>ère</sup> mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 9  
mesures différentes  $\pm$  intervalle de confiance.
- 31** Effets des différentes concentrations en  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  [50, 100, 150 et 200 ppm] **47**  
sur les quantités en protéines (mg/100 mg de poids sec) des plantules de  
*Marrubium vulgare* L. Les dosages ont été réalisés au 20<sup>ème</sup> jour depuis la  
1<sup>ère</sup> mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 3  
dosages différents  $\pm$  écart-type.
- 32** Effets des différentes concentrations en  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  [50, 100, 150 et 200 ppm] **48**  
sur les quantités en protéines (mg/100 mg de poids sec) des plantules de  
*Marrubium vulgare* L. Les dosages ont été réalisés au 20<sup>ème</sup> jour depuis la

1<sup>ère</sup> mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 3 dosages différents  $\pm$  écart-type.

- 33** Evolution des longueurs du 1<sup>er</sup> axe feuillé des plantules de *Marrubium vulgare* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  [50, 100, 150 et 200 ppm] en fonction du temps. Ces mesures ont été réalisées chaque semaine depuis le transfert des plantules en pots, effectué au 10<sup>ème</sup> jour depuis la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines. **50**
- 34** Evolution des longueurs du 1<sup>er</sup> axe feuillé des plantules de *Marrubium vulgare* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  [50, 100, 150 et 200 ppm] en fonction du temps. Ces mesures ont été réalisées chaque semaine depuis le transfert des plantules en pots, effectué au 10<sup>ème</sup> jour depuis la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines. **51**
- 35** Constat de développement du 1<sup>er</sup> axe feuillé au bout de la 6<sup>ème</sup> semaine après transfert en pot des plantules de *Marrubium vulgare* L. dont les graines ont été préalablement traitées par une concentration en  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  de [200 ppm]. **60**

N°	Titre	Page
01	Principaux effets du chrome sur la croissance et le développement des plantes et ses incidences sur la production au final de la biomasse (Shanker et al. 2005).	22
02	Effets toxiques du chrome sur les processus physiologiques des plantes (Shanker et al. 2005).	23
03	Pourcentages cumulés moyens enregistrés au 4 <sup>ème</sup> jour du suivi de la germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en Cd et Cr.	39
04	Pourcentages cumulés moyens finaux enregistrés au 20 <sup>ème</sup> jour du suivi de la germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en Cd et Cr.	39
05	Temps moyens de germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en Cd et Cr.	40
06	Rapport Cr / Cd et longueurs racinaires moyennes des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. issues des graines non traitées [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations [50, 100, 150 et 200 ppm] en Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> et en K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> en fonction du temps (4 <sup>ème</sup> , 12 <sup>ème</sup> et 20 <sup>ème</sup> jour).	43
07	Longueurs des axes hypocotylés moyennes des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. issues des graines non traitées (témoins) et des graines traitées par différentes concentrations [50, 100, 150 et 200 ppm] en Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> et en K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> . Les mesures ont été réalisées au 20 <sup>ème</sup> jour depuis la 1 <sup>ère</sup> mise à germination et représentent une valeur moyenne de 9 mesures différentes ± intervalle de confiance.	46
08	Longueurs des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. issues des graines non traitées (témoins) et des graines traitées par différentes concentrations [50, 100, 150 et 200 ppm] en Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> et en K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> . Les mesures ont porté sur les longueurs racinaires qu'on a additionnées aux longueurs des axes hypocotylés.	46
09	Contenu protéinique des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. issues des graines non traitées (témoins) et des graines traitées par différentes concentrations [50, 100, 150 et 200 ppm] en Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> et en K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> . Les dosages ont été réalisés au 20 <sup>ème</sup> jour depuis la 1 <sup>ère</sup> mise à germination et représentent une valeur moyenne de 3 dosages différents ± écart-type.	49
10	Rapport Cr / Cd et longueurs des 1ers axes feuillés moyens des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. issues des graines non traitées [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations [50, 100, 150 et 200 ppm] en Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> et en K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> en fonction du temps.	52

# **INTRODUCTION GENERALE**

## I- Introduction

La révolution industrielle a conduit à une augmentation de la concentration des éléments traces métalliques dans la biosphère, ce qui est devenu une préoccupation majeure pour l'environnement, menaçant les ressources en eau et du sol et se répercutant négativement sur la flore, la faune et la santé humaine via la chaîne alimentaire (Mitra et al. 2022).

Ces éléments peuvent être non essentiels, hautement toxiques et très nuisibles même aux concentrations infimes, cas du cadmium, du plomb et du mercure. D'autres, tels que le cuivre et le zinc, sont essentiels à la croissance des plantes aux faibles concentrations, devenant toxiques à des niveaux plus élevés. Leur influence sur les plantes se manifeste par l'inhibition de la croissance, suivie de la mort (Raychaudhuri et al. 2021).

De nombreuses études ont été réalisées sur les effets du cadmium sur les plantes, s'intéressant à toutes les étapes d'un cycle de développement typique, depuis la germination des graines à la production de la biomasse. Elles ont montré que cet élément, à certaines concentrations, est inhibiteur de la germination, de la croissance et du développement des plantes. A son tour, le chrome perturbe plusieurs processus métaboliques, se manifestant par une réduction du pouvoir germinatif et retardant la croissance des racines et des parties aériennes. L'influence de ces éléments ne dépend pas seulement du type d'élément métallique testé, de la concentration appliquée, mais aussi de l'espèce végétale sélectionnée (Zulfiqar et al. 2022 ; 2023).

L'espèce végétale sélectionnée dans cette étude est primordiale, au vu de ses capacités intrinsèques à limiter ou non la toxicité d'un élément métallique. Les stratégies de tolérance développées par les métallobytes et/ou les espèces hyper accumulatrices offrent un avantage certain, au moins dans la compréhension des mécanismes développés pour neutraliser la toxicité de ces éléments. Les perspectives d'application pour résoudre les problèmes de la dépollution sont incitatives lorsqu'on utilise de tels espèces pour y remédier. La phytoremédiation apparaît dans ce cas, comme une voie alternative, moins coûteuse, plus extensive et plus respectueuse des sols et de l'environnement (Shen et al. 2022).

Notre travail a été donc initié pour déterminer et comparer les effets inhibiteurs de deux éléments métalliques, cadmium et chrome, sur la germination des graines du *Marrubium vulgare* L., ainsi que sur les premiers stades de la croissance et de développement des jeunes plantules, en vue d'entrevoir une perspective d'utilisation en phytoremédiation.

Il s'agit d'une herbacée vivace appartenant à la famille des Lamiacées, largement répandue dans les régions tempérées d'Afrique du Nord. Elle est connue et utilisée pour ses vertus thérapeutiques, grâce aux divers composés bioactifs qu'elle renferme dont des huiles essentielles, de la marrubiine, des flavonoïdes et des esters de phénylethyl (Yabrir, 2019 ; Ačimovič et al. 2020).

Pour réaliser ce travail, deux éléments métalliques ont été utilisés, le cadmium apporté sous forme de  $[\text{Cd}(\text{NO}_3)_2]$  et le chrome apporté sous forme de  $[\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7]$ . Ils ont été utilisés aux concentrations de [50, 100, 150 et 200 ppm] sur les graines de *Marrubium vulgare* L., mises en germination en conditions contrôlées.

L'évolution au cours du temps des pourcentages de germination moyens cumulés, du pouvoir germinatif obtenu au final (20<sup>ème</sup> jour) et des temps moyens de germination ont été considérés dans la présente étude. Durant cette vingtaine de jours, l'allongement de la radicule qui émerge des graines germées a été également mesurée tous les quatre jours.

Au bout du 20<sup>ème</sup> jour, des mesures biométriques ont été réalisées sur les parties radiculaires et les axes hypocotylés, ainsi que leur statut hydrique qui a été calculé depuis les poids frais et les poids secs obtenus. En parallèle, le contenu protéinique a été déterminé sur les plantules récupérées au bout de ce 20<sup>ème</sup> jour, selon la méthode de **Bradford (1976)**.

Les plantules qui se sont développées 10 jours après la 1<sup>ère</sup> mise à germination ont été transplantées en pots. La capacité à émettre et développer un 1<sup>er</sup> axe feuillé a été considérée durant ce travail en réalisant des mesures hebdomadaires durant 6 semaines de temps.



# **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## II- Synthèse bibliographique

### II-1- *Marrubium vulgare* L.

*Marrubium vulgare* L. ou marrube blanc est une espèce très répandue dans le bassin méditerranéen et utilisée pour ses vertus thérapeutiques (Lodhi et al. 2017 ; Ahvazi et al. 2018 ; Yabrir, 2019). Elle fait partie de la famille des Lamiacées, une famille composée d'espèces (environ 7000 pour 260 genres) aussi bien herbacées que ligneuses et dont l'aire de répartition est assez vaste. Elle comprend de nombreuses espèces économiquement importantes (thym, sarriette, serpolet, romarin, sauge, origan, menthe), à usages condimentaires, alimentaires et/ou médicinales (Carović-Stanko et al. 2016 ; Uritu et al. 2018 ; Michel et al. 2020 ; Selvi et al. 2022).

#### II-1-1- Position systématique et étymologie

La classification hiérarchique du marrube blanc, commun ou vulgaire (*Marrubium vulgare* L.) est ainsi ([http://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/107397/tab/taxo](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

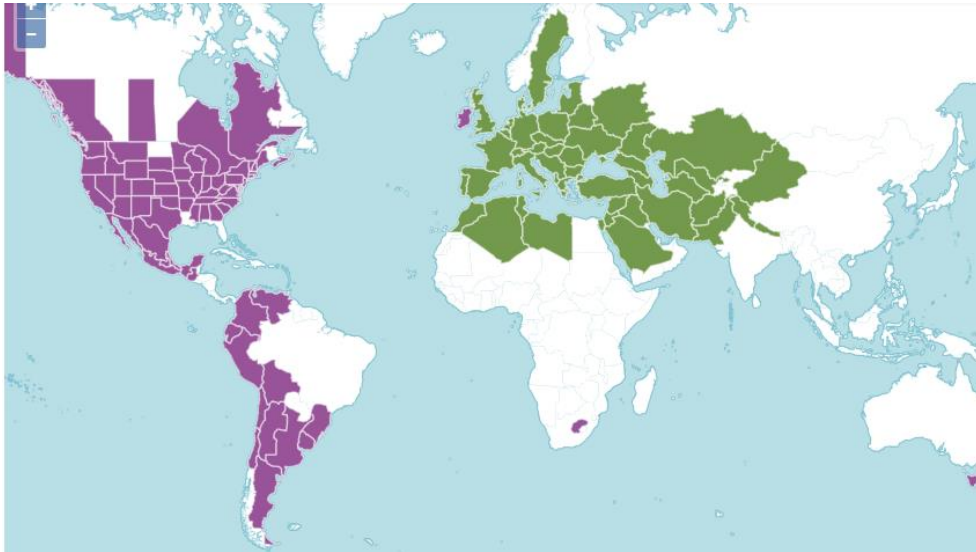
**Genre** : *Marrubium* L., 1753

**Espèce** : *Marrubium vulgare* L., 1753

Le nom latin, *Marrubium vulgare* L., dérive des termes hébreux : *mar*, qui signifie ‘amer’, et *rob*, qui signifie ‘beaucoup’. Le goût du marrube lui a donné l’adjectif *vulgare*, qui signifie simple ou commun. En Egypte antique, il était nommé *graine d’Horus* (dieu égyptien), ce surnom est d’ailleurs à l’origine de son nom anglais, *white Horehound* (Aćimović et al. 2020). Le nom *Marrubium* pourrait aussi provenir de l’ancienne ville Italienne ‘*Maria urbs*’. En Algérie, l’espèce est dénommée *Marrioua* ou encore *Marriouth* notamment en Kabylie (Zidat, 2016).

## II-1-2- Distribution et habitats

*Marrubium vulgare* possède une distribution assez vaste. On la rencontre dans presque toutes les régions d'Europe, essentiellement au centre et au sud, en Afrique du nord et en Asie. Elle a été introduite en Amérique du nord et du sud (**Fig. 1**). Il s'agit d'une espèce commune sur les bords de chemins, les prés secs et les terrains vagues. Son odeur de thym, la distingue des autres plantes. Sa culture est universelle, puisque considérée comme source d'arôme pour les aliments et utilisée pour des fins thérapeutiques (**Lodhi et al. 2017**).



**Figure 1** : Aire de répartition de *Marrubium vulgare* L. En vert, son aire de répartition native et en violet, son aire d'introduction.

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

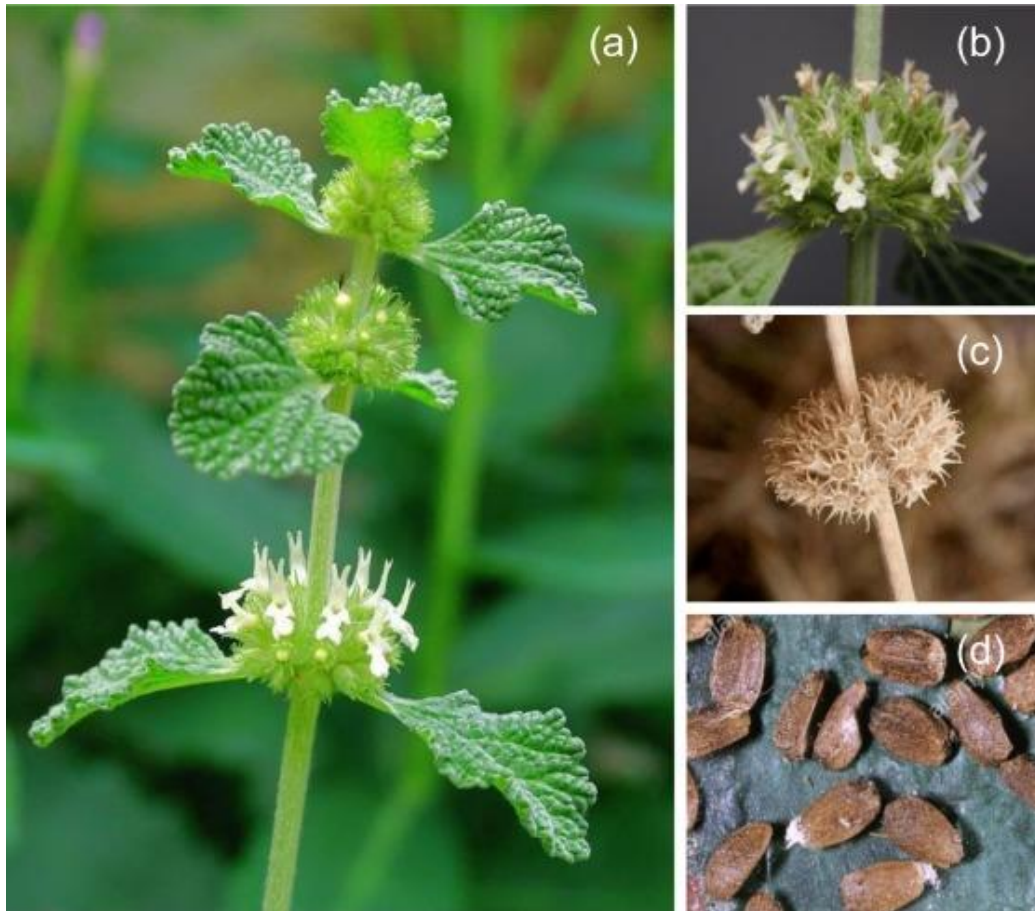
## II-1-3- Description botanique

*Marrubium vulgare* L. est une plante herbacée vivace de 30-60 cm de hauteur, à l'odeur musquée. Ses tiges sont dressées, rameuses, quadrangulaires et densément tomenteuses (**Fig. 2a**).

Ses feuilles sont obovales, ridées, à bord crénelé et dentelé, vert jaunâtre sur la face supérieure et vert blanchâtre sur la face inférieure (**Fig. 2a**).

Ses fleurs sont nombreuses, blanches, à corolle bilabée disposées en faux verticilles. Le calice a 10 dents crochues. Les fleurs possèdent 4 étamines (**Fig. 2b**).

Ses fruits sont des tétrakènes (**Fig. 2c**). La capsule du fruit contient environ 3 à 4 graines. Ces graines de 1 à 2,5 mm de long sont de forme ovoïde, légèrement aplaties dans leur contour avec une surface rugueuse (**Fig. 2d**) (**Quezel et Santa, 1963 ; Lodhi et al. 2017 ; Nedjimi et al. 2020**).



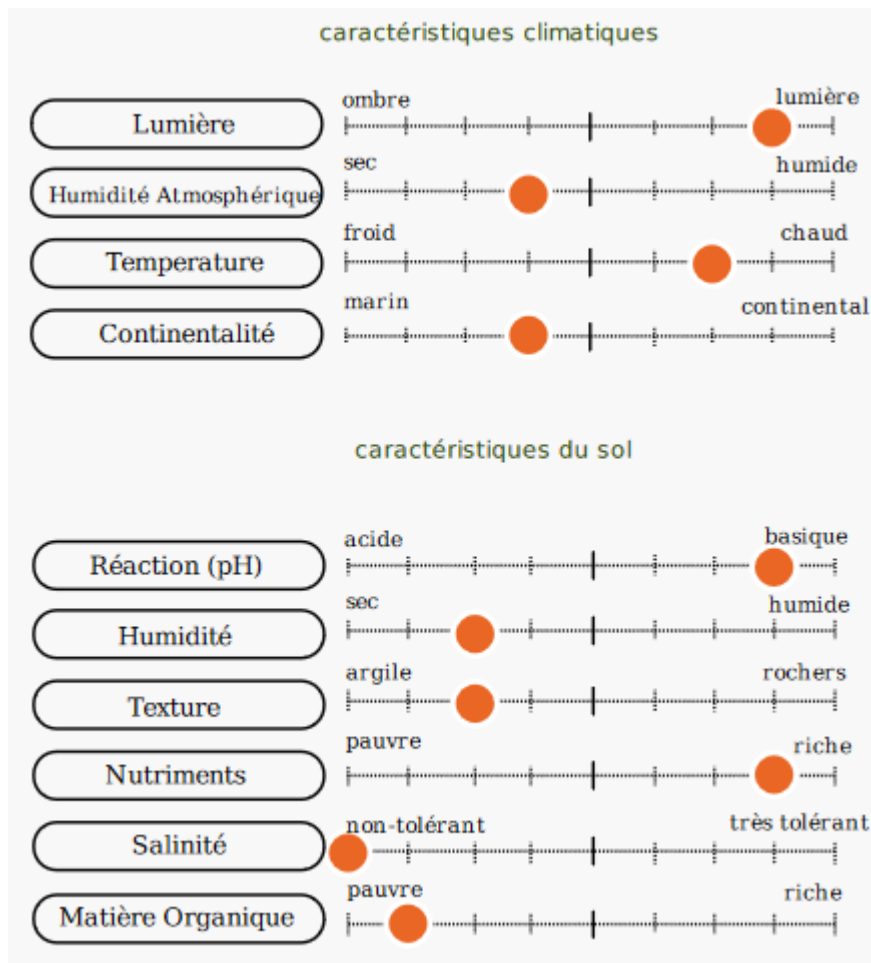
**Figure 2** : *Marrubium vulgare* L. : (a) plante entière et feuilles ; (b) fleurs ; (c) fruit en akène ; (d) graines (Nedjimi et al. 2020).

#### II-1-4- Ecologie

Selon Julve (2021), *Marrubium vulgare* L. colonise principalement les sols secs et bien drainés et ne tolère pas les terrains gorgés d'eau ainsi que la salinité. C'est une espèce qui préfère des sols à texture légère (limoneux-sableux), à pH légèrement alcalin ( $7,5 < \text{pH} < 8,0$ ), moyennement à fortement riches en nutriments ( $\approx 1250 \mu\text{g N/l}$ ) et relativement pauvres en matières organiques (milieu carbonaté) (Fig. 3).

Il s'agit d'une plante héliophile, de pleine lumière (perhéliophile 75 000 lux), poussant en conditions d'humidité atmosphérique intermédiaire (40%), de température plutôt euryméditerranéenne ( $T \approx 13^\circ\text{C}$ ) et de continentalité subocéanique (amplitude thermique  $\approx 19^\circ\text{C}$ ) (Fig. 3) (Julve, 2021).

Au niveau de la steppe Algérienne, il a été rapporté que *Marrubium vulgare* L. pousse souvent aux côtés d'espèces comme *Peganum harmala*, *Artemisia campestris* et *Euphorbia guyoniana* (Nedjimi et al. 2020).



**Figure 3** : Optimum écologique de *Marrubium vulgare* L. par rapport aux caractéristiques du sol et vis-à-vis du climat. Source : <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-40975-ecologie>

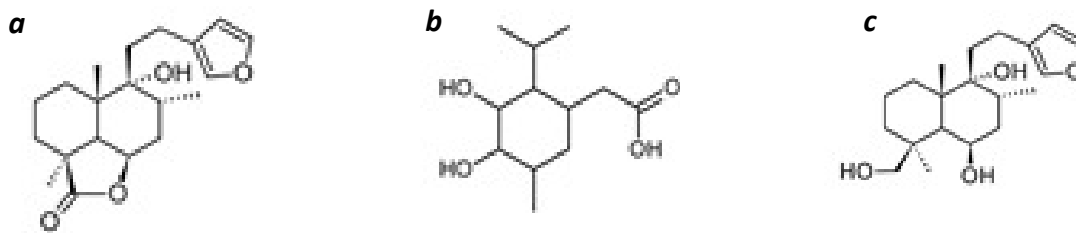
### II-1-5- Composition phytochimique

L'analyse de la composition phytochimique des extraits de *Marrubium vulgare* L. révèle la présence des huiles essentielles, en traces (de 0,03 à 0,06%), dont des mono terpènes (*camphène*, *p-cymol*, *fenchène*, *limonène*,  *$\alpha$ -pinène*, *sabinène* et  *$\alpha$ -terpinolène*).

L'espèce produit également des dérivés mono terpéniques non-volatiles (*acide marrubique* et un mono terpène glycoside dénommé *sacranoside A*) ; des sesquiterpènes lactones (*vulgarine*) ; des phytostérols ( *$\beta$ -sitostérol*) et des composés triterpénoïdes (*lupéol* et *acide oléanolique*).

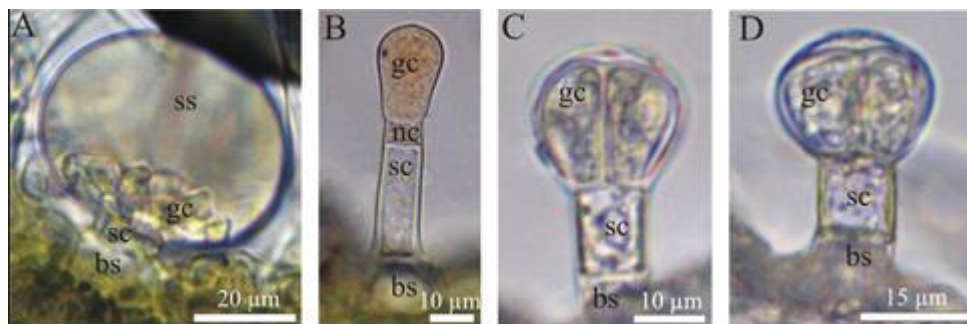
*Marrubium vulgare* L. accumule des di-terpènes de type *labdane* comme principaux composants amers, et ce jusqu'à 3 mg/g de poids frais : la *marrubiine* est le représentant le plus significatif (0,12 à 1%) suivi de son précurseur la *pré-marrubiine* (0,13 %), *12 (S)-hydroxymarrubiine*, *11-oxomarrubiine*, etc. (Masoodi et al. 2015 ; Amri et al. 2017).

La *marrubiine* possède des caractéristiques essentielles (faible turnover, stabilité élevée et faible catabolisme), qui sont autant d'atouts qui procurent des propriétés anti-nociceptives, anti-oxydantes, anti-génotoxiques, cardio-protectrices, vaso-relaxantes, gastro-protectrices, antispasmodiques, immuno-modulatrices, anti-oedématogènes, analgésiques et antidiabétiques. En plus, la *marrubiine* est considérée comme un substrat potentiel pour des composés actifs puissants, en particulier l'*acide marrubique* et le *marrubénol* qui possèdent respectivement une activité anti-nociceptive et vaso-relaxante (**Fig. 4**) (**Popoola et al. 2013**).



**Figure 4** : Structure chimique de la *marrubiine* (a), de l'*acide marrubique* (b) et du *marrubénol* (c) issus des extraits de *Marrubium vulgare* L. (**Ačimovič et al. 2020**).

La *marrubiine* et les métabolites di-terpènes apparentés s'accumulent principalement au niveau des feuilles et des trichomes glandulaires. L'accumulation dépend du stade du développement des plantes. Aucun composé n'est accumulé au cours des 4 à 5 premières semaines suivant la germination des graines. L'accumulation s'observe lorsque les feuilles sont suffisamment différenciées et le nombre de trichomes est élevé (**Fig. 5**) (**Haratym and Weryszko-Chmielewska, 2017**).



**Figure 5** : Caractérisation histochemique des différents types de trichomes glandulaires retrouvés au niveau des feuilles de *Marrubium vulgare* L. (A), trichome pelté ; (B), trichome capitulé de type I à une seule cellule glandulaire (gc) ; (C), trichome capitulé de type II à deux cellules glandulaires ; (D), trichome capitulé de type III à quatre cellules glandulaires (**Haratym and Weryszko-Chmielewska, 2017**).



*Marrubium vulgare* L. est aussi source d'acides phénoliques (*acides gallique, gentisique et syringique*), d'acides phénylpropanoïdes (*acides cinnamique, cafféique, férulique, sinapique et coumarique*), d'esters phénylpropanoïdes (*acides rosmarinique, chlorogénique*) et de glycosides phényléthanoïdes (*acteoside, alyssonoside, marruboside*). La quantité de dérivés totaux de l'acide cinnamique est estimée à 14,09 mg/100 mg de matière sèche (**Boudjelal et al. 2012**).

On trouve aussi des flavonoïdes, des composés azotés, des tanins et des mucilages, ainsi qu'une fraction minérale, en particulier des sels de potassium (**Lodhi et al. 2017 ; Yabrir, 2019 ; Ačimovič et al. 2020 ; Hayat et al. 2020 ; Michel et al. 2020**).

### II-1-6- Applications

En produisant des composés bioactifs structurellement diversifiés (huiles essentielles, marrubiine, flavonoïdes, esters de phénylethyl, etc.), *Marrubium vulgare* L. se révèle très bénéfique pour la santé.

Une décoction préparée à base de feuilles de *Marrubium vulgare* L. avec du miel est utilisée pour traiter la toux, la bronchite, le rhume et les infections des voies respiratoires. L'herbe est d'ailleurs utilisée pour préparer le célèbre bonbon au marrube dénommé *Ricola*, qu'on pourra ou non agrémenter d'une saveur réglisse.

En phytothérapie moderne, des médicaments à base de marrube sont utilisés comme expectorants, dans le traitement symptomatique des affections dyspeptiques légères comme les ballonnements et les flatulences, ainsi que dans la perte temporaire d'appétit. Son amertume stimule des récepteurs gustatifs, situés à la base de la langue, entraînant ainsi une augmentation des sécrétions gastriques et biliaires qui redonnent l'appétit.

En médecine traditionnelle, *Marrubium vulgare* L. est non seulement connue pour traiter les problèmes respiratoires, mais également utilisée pour traiter la jaunisse, les menstruations douloureuses et comme laxatif. Ce sont aussi ses propriétés antiseptiques qui sont à relever, en utilisation externe, pour soigner ulcères, plaies avec œdèmes, mycoses et autres affections de la peau.

Ces dernières années, de nombreux effets pharmacologiques des extraits de *Marrubium vulgare* L. ont été étudiés. Possédant une très bonne action antioxydante, le marrube blanc s'avère très utile dans les traitements du cancer, du diabète et les maladies du foie. La plante possède des effets anti-inflammatoires et hémostatiques, ainsi que des propriétés anti hypertensives, sédatives et antimicrobiennes (**Yabrir, 2019 ; Ačimovič et al. 2020 ; Hayat et al. 2020 ; Michel et al. 2020**).

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

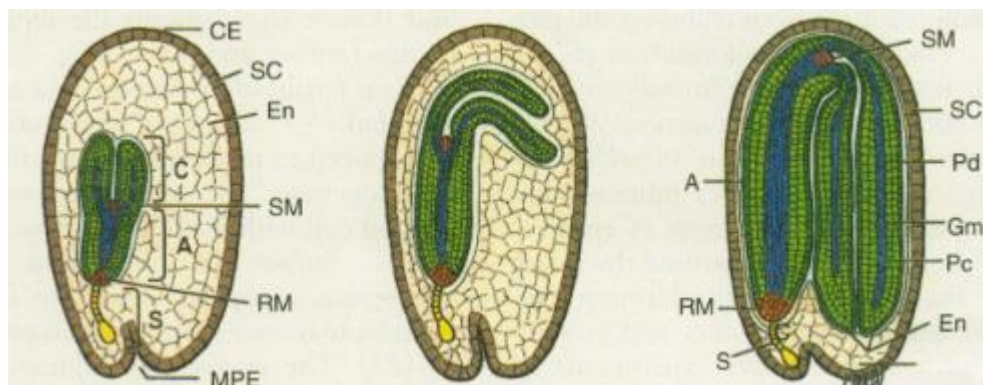
La vie individualisée d'une semence commence dès lors qu'elle se sépare de la plante mère qui lui a donné naissance. Cette vie se termine par la germination, un processus qui commence par l'absorption d'eau et se termine par l'élongation de l'axe embryonnaire et l'émergence de la racicule à travers les structures qui entourent l'embryon (**Hopkins, 2003**).

### II-2-1- Structure des graines

Les éléments constitutifs d'une graine sont l'embryon et le tégument. L'embryon résultant de la prolifération du zygote représente l'ébauche de la future plante et comprend un axe embryonnaire, qui porte un ou plusieurs cotylédons. A l'une des extrémités de cet axe se trouve la gemmule qui formera la tige feuillée. A l'autre extrémité, la racicule produira les racines (**Fig. 6**).

L'embryon est entouré d'un tissu nutritif, l'albumen, qui se développent tous deux en parallèle. Les graines dites albuminées contiennent à maturité un albumen plus ou moins abondant, chargé de réserves. Dans certaines familles, l'embryon se développe plus vite que l'albumen et finit par l'écraser : la graine mûre dite ex-albuminée ne contient plus qu'un volumineux embryon renfermant les réserves nutritives, principalement dans leurs cotylédons.

Le tégument offre des caractères très variés suivant les espèces : dur et imperméable ou alors mince et très perméable, lisse ou verruqueux avec toute une gamme d'ornementations intermédiaires (**Goldberg et al. 1994 ; Hopkins, 2003**).



**Figure 6** : Représentation schématique des différentes étapes de l'embryogenèse aboutissant à la formation d'un embryon mature. Légende : *CE*, chalaze ; *SC*, tégument ; *En*, endosperme ; *SM*, méristème apicale caulinaire ; *RM*, méristème apicale radulaire ; *MPE*, micropyle ; *A*, axe embryonnaire ; *C*, cotylédon ; *S*, suspenseur ; *Pc*, procambium ; *Gm*, méristème ; *Pd*, protoderme. Source : **Goldberg et al. 1994**.



## II-2-2- Maturation des graines

Pendant la maturation de la graine, il y a sécrétion des protéines et des lipides dans le cytoplasme et concentration d'amidon dans les plastes. Des sels minéraux, dont notamment le phosphate, sont stockés sous forme complexée avec l'acide phytique.

La maturation de la graine se termine par une déshydratation du cytoplasme. La teneur en eau chute progressivement, accompagnée d'un très fort ralentissement de l'activité physiologique. La graine en vie ralentie est néanmoins capable de tolérer la forte dessiccation induite par cette déshydratation grâce à plusieurs mécanismes mis en place déjà lors du processus de maturation. On pourra citer l'intense synthèse de l'acide abscissique, l'accumulation d'oligosaccharides, des osmo-protectants en particulier la proline, ainsi que des protéines de réserve et des protéines dédiées à la tolérance de la dessiccation, dont les HSP (protéines des chocs thermiques ou *Heat Shock Proteins*) et les protéines LEA (*Late Embryogenesis Abundant*) (Morot-Gaudry et al. 2021).

## II-2-3- Dormance

La dormance est un terme qui renvoie à une forme de vie ralentie. Elle correspond à la période où, dans le cycle de vie d'une graine, la croissance et le développement sont temporairement arrêtés. Cela réduit l'activité métabolique et aide donc l'organisme à tolérer cet état et réserver ainsi de l'énergie (Hopkins, 2003 ; Baskin & Baskin, 2004 ; Morot-Gaudry et al. 2021).

### II-2-3-1- Définitions et caractéristiques

On parle communément de dormance, lorsque des graines placées en bonnes conditions de germination, ne germent pas. Il en existe classiquement 2 types, l'inhibition tégumentaire et la dormance embryonnaire.

Dans le premier type, les embryons dormants, une fois séparés de leurs téguments, germent très bien dans des conditions de germination où les graines ne germent pas ; il s'agit dès lors d'une action inhibitrice exercée par les enveloppes séminales, qui empêchent le passage de l'eau ou de l'oxygène.

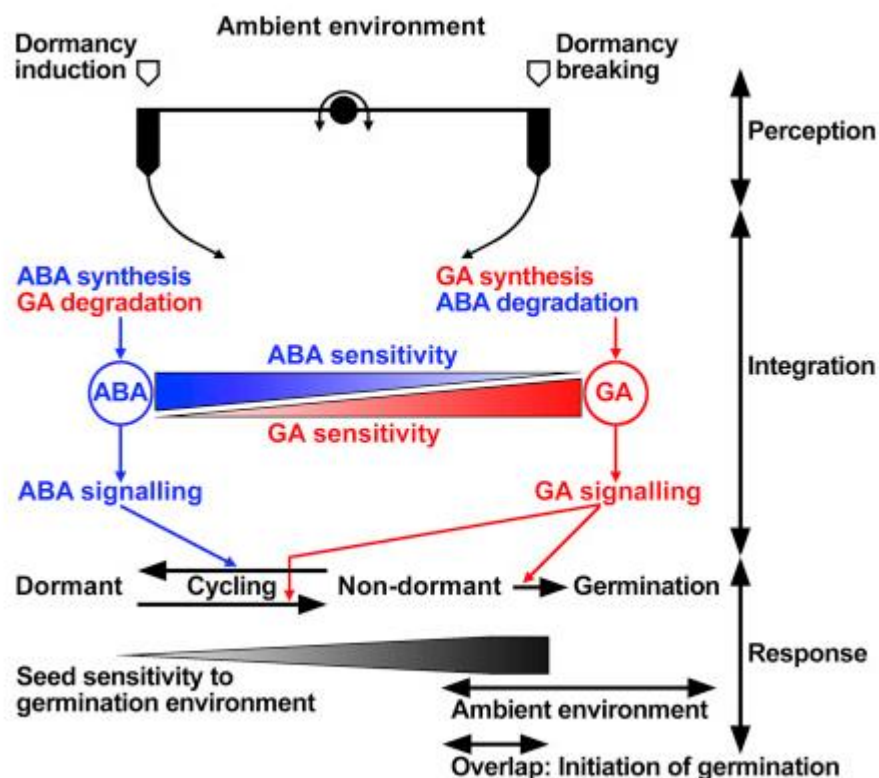
Dans le second type, même isolés et débarrassés de la contrainte tégumentaire, les embryons ne germent pas ; il s'agit alors d'une incapacité des embryons à germer, qualifiée de dormance embryonnaire (Lang et al. 1987 ; Hilhorst and Karssen, 1992 ; Mazliak, 1998 ; Marouf and Raynaud, 2007 ; Morot-Gaudry et al. 2021).

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

Les enveloppes séminales qui entourent l'embryon peuvent être responsables de la dormance, soit parce qu'elles sont imperméables à l'eau et/ou à l'oxygène, soit parce qu'elles contiennent des substances inhibitrices de la germination, ou piégeant l'oxygène, soit par leur résistance mécanique (Hopkins, 2003).

### II-2-3-3- Contrôle hormonal

La dormance embryonnaire se fait essentiellement sous contrôle hormonal. L'acide abscissique est inducteur de la dormance. Il s'accumule lors de l'embryogenèse, plus particulièrement lors de l'accumulation des réserves et de la tolérance de la dessiccation. En contrepartie, l'acide gibbérellique est plutôt stimulateur de la germination. L'hormone est impliquée dans l'expansion cellulaire, donc nécessaire à l'allongement de la radicule. La balance hormonale entre ABA et GA joue un rôle déterminant dans la mise en place et la levée de la dormance (Fig. 7). L'augmentation du rapport ABA/GA ne permet aucune germination des graines (Foley, 2001 ; Morot-Gaudry et al. 2021).



**Figure 7 :** Balance hormonale et effets antagonistes exercés sur la dormance et la germination par l'acide abscissique (ABA) et l'acide gibbérellique (GA). Source : Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006.

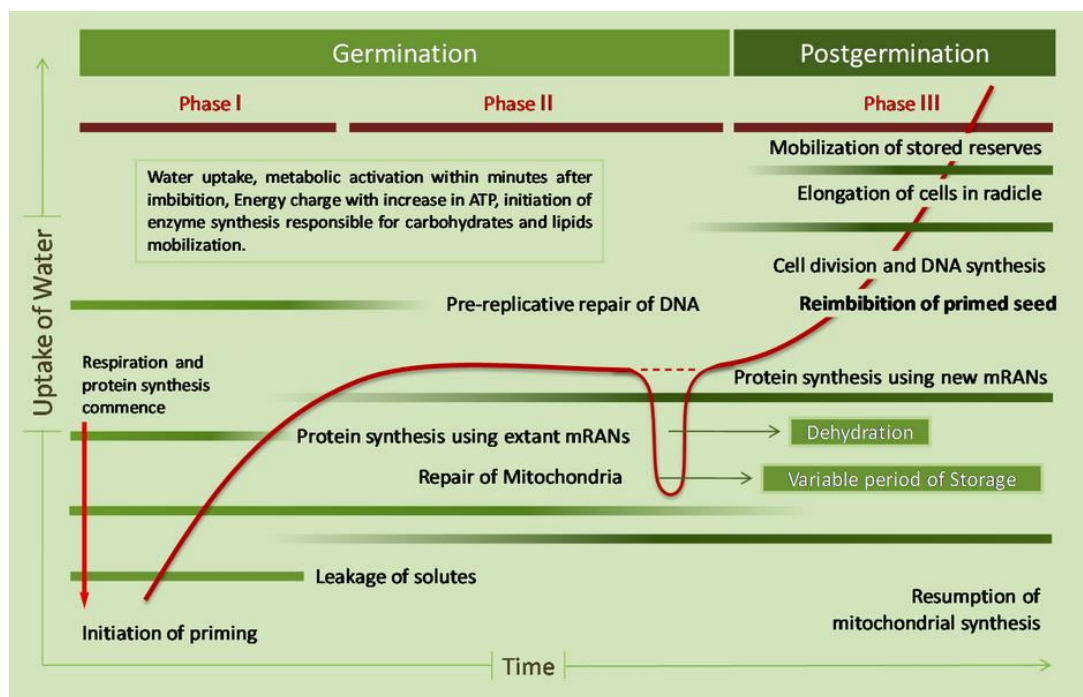
## II-2-4- Germination des graines

Le processus de germination est l'étape par laquelle la croissance embryonnaire après la phase de repos reprend. Ce processus ne se déclenche pas tant que la graine n'a pas été transportée dans un environnement favorable. Ces conditions sont déterminantes : un substrat suffisamment approvisionné en eau, une disponibilité suffisante en oxygène pour permettre la respiration aérobie et une température appropriée pour divers processus métaboliques.

En outre, la germination de latence peut nécessiter certains stimuli environnementaux tels que la lumière ou de basses températures, ou un affaiblissement de l'enveloppe séminale de la graine (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

La germination se déroule en trois phases successives : la phase d'imbibition, la phase de germination au sens strict et la phase de croissance ou post-germinative (Bewley, 1997 ; Hopkins, 2003 ; Heller et al. 2004 ; Morot-Gaudry et al. 2021).



**Figure 8** : Evolution de la quantité d'eau au cours des trois phases de la germination et les principales activités métaboliques associées. Source : Mirmazloun et al. 2020.

- **Phase d'imbibition** : marquée par une rapide et intense absorption d'eau conduisant au gonflement de la graine. Elle implique un mouvement d'eau dans le sens de potentiel hydrique décroissant. L'hydratation de la graine 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, il est observé une reprise de la respiration, les mitochondries fonctionnelles fournissent suffisamment d'ATP et la synthèse des protéines est rehaussée après traduction des ARNm, qui ont été stockés au préalable au cours du développement de la graine. Parallèlement, il est noté la mise en place de systèmes de réparation des organites, des membranes, de l'ADN et des protéines, qui ont été endommagés lors de la dessiccation, du stockage ou de la réhydratation (**Fig. 8**).

- *Phase de germination au sens strict* : les graines ne s'imbibent plus durant cette phase eau quasi stationnaire et de durée variable. Tous les mécanismes se déroulant lors la 1<sup>ère</sup> phase se poursuivent 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. 8**).

- *Phase de croissance ou post-germinative* : caractérisée à nouveau par une entrée d'eau. C'est une phase qui commence par la percée de la radicule, qui s'engage dans une croissance rapide par élongation et reprise des divisions cellulaires. L'activité respiratoire augmente également ainsi que la teneur en eau, notamment lors de l'émergence des parties aériennes de la jeune plantule. Tous ces événements sont liés à l'utilisation des réserves en premier lieu, avant de passer à l'autotrophie (**Fig. 8**).

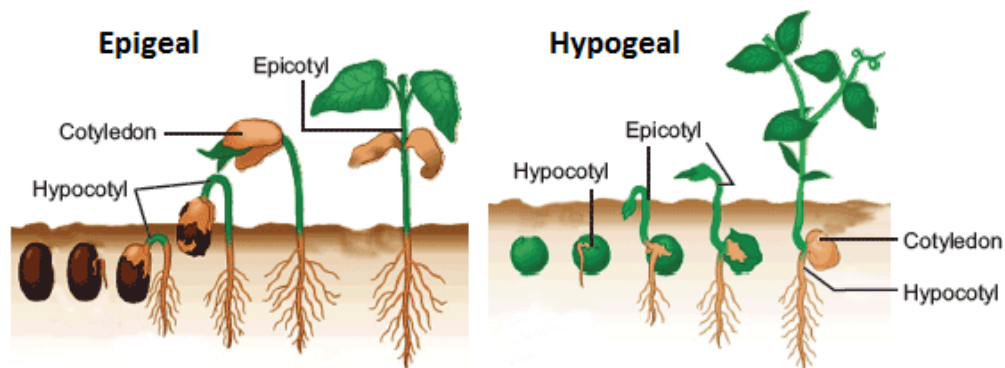
#### **II-2-4-2- Effets de l'équilibre hormonal et mobilisation des réserves**

Durant les deux premières phases, les graines éliminent l'ABA sous la forme d'acide phaséique, un métabolite inactif, et produisent davantage d'acide gibbérellique (**Fig. 7**). Le rapport ABA/GA étant plus faible, permet aux graines de passer en phase de croissance avec perte de la tolérance à la dessiccation. Il peut aussi favoriser la synthèse d'enzymes de dégradation des parois cellulaires, facilitant ainsi l'émergence de la radicule (**Morot-Gaudry et al. 2021**).

Les réserves de la graine accumulées au niveau des cotylédons ou de l'albumen, sont massivement mobilisées pendant le déroulement de la germination. Leur dégradation est source d'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 ; il fait suite à la racine germinale qui pousse en dessous de l'hypocotyle. L'axe hypocotylé est une partie de l'axe caulinaire comprise entre la racine et le point d'attache des cotylédons, issue du développement important de la tigelle de l'embryon. Cet accroissement entraîne le soulèvement au-dessus du sol des cotylédons (germination épigée). La partie au-dessus des cotylédons s'appelle l'épicotyle. Chez les espèces à germination hypogée, l'hypocotyle reste sous la terre et garde la même longueur (Fig. 9).



**Figure 9** : Les deux types de germination des graines, épigée et hypogée. Source : <http://www.plantscience4u.com/2014/08/types-of-seed-germination-epigeal-and.html>

L'allongement de l'axe caulinaire résulte des divisions et du grandissement des cellules produites par les cellules du méristème apical caulinaire. La vitesse et l'ampleur de cet allongement sont contrôlés par les facteurs environnementaux, tels que la lumière et la température, ainsi que par les phytohormones. 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

Si certains éléments métalliques ou oligoéléments (Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, Ni, etc.) présents en traces, sont essentiels pour le fonctionnement d'un organisme, une augmentation de leur concentration peut entraîner des dommages. D'autres éléments sont neutres ou toxiques (Pb, Hg, Cd), dont la présence est fortement exacerbée par les activités humaines dans l'environnement (Adriano, 2001).

## II-3-1- Eléments traces métalliques

### II-3-1-1- Définition

Le terme métaux lourds est employé pour regrouper des éléments possédant des propriétés métalliques telles que la ductilité, la conductivité, la stabilité des cations et la spécificité des ligands, ainsi qu'une densité supérieure à 5 g/cm<sup>3</sup> (Raskin et al. 1994 ; Adriano, 2001). Le terme éléments traces métalliques (ETM) est plus indiqué pour désigner ces métaux, qui regroupent le nickel (Ni), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le plomb (Pb), le mercure (Hg), le cadmium (Cd) et le chrome (Cr), auxquels on rajoute des métalloïdes tels que l'arsenic (As) et le sélénium (Se), qui ne sont que des éléments traces et pas des métaux (Duffus, 2002).

### II-3-1-2- Origine

Les ETM se trouvent naturellement dans les formations rocheuses et sont libérés lors de processus d'altérations pour constituer le fond géochimique. Dans ce cadre, l'activité volcanique, l'altération des continents et les incendies de forêts y contribuent fortement. Ils peuvent aussi provenir des apports anthropiques liés notamment aux activités et pratiques agricoles et aux émissions atmosphériques résultant de l'industrie extractive et métallurgique (Fig. 10). A noter que les ETM provenant d'apports anthropiques sont présents sous des formes chimiques assez réactives et entraînent en conséquence des risques supérieurs à ceux d'origine naturelle, qui sont le plus souvent immobilisés sous des formes relativement inertes (Adriano, 2001).

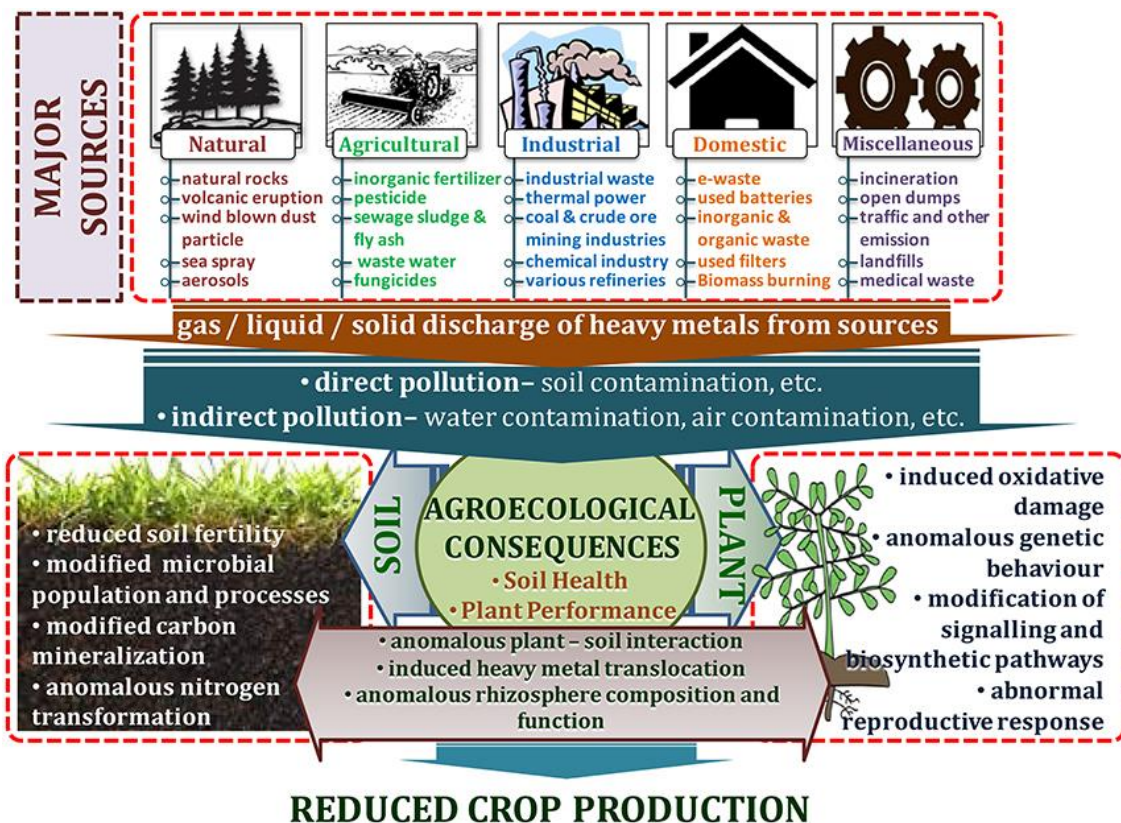
### II-3-1-3- Toxicité liée aux éléments traces métalliques

La contamination induite par les ETM est une préoccupation majeure, en raison des menaces sur la santé des êtres vivants et sur la qualité de l'environnement. Les ETM présents dans la croûte terrestre au vu de leurs caractéristiques physico-chimiques, ne sont ni dégradés ni détruits. Ils sont bioaccumulables et peuvent pénétrer lentement les plantes, les animaux et les humains par l'air, l'eau et via la chaîne alimentaire (Srivastava et al. 2017).

La consommation particulièrement des cultures vivrières poussant dans des sols contaminés par les ETM est source de graves problèmes touchant la santé humaine. Ils peuvent provoquer des cancers, fragiliser les mécanismes immunologiques, induire des retards de croissance. Les conséquences sur la biodiversité, la densité et l'activité de la faune et de la flore sont aussi dramatiques (Fig. 10) (Rai et al. 2019).

Avec les changements climatiques, les contaminations induites par les ETM sur les systèmes sol-air-eau impactent les ressources vitales et nutritionnelles de toute une population (Grison, 2022).





**Figure 10** : Sources majeures des éléments traces métalliques et leurs conséquences agroécologiques (sols et plantes). Source : **Srivastava et al. 2017**.

## II-3-2- Phytoremédiation

### II-3-2-1- Définition

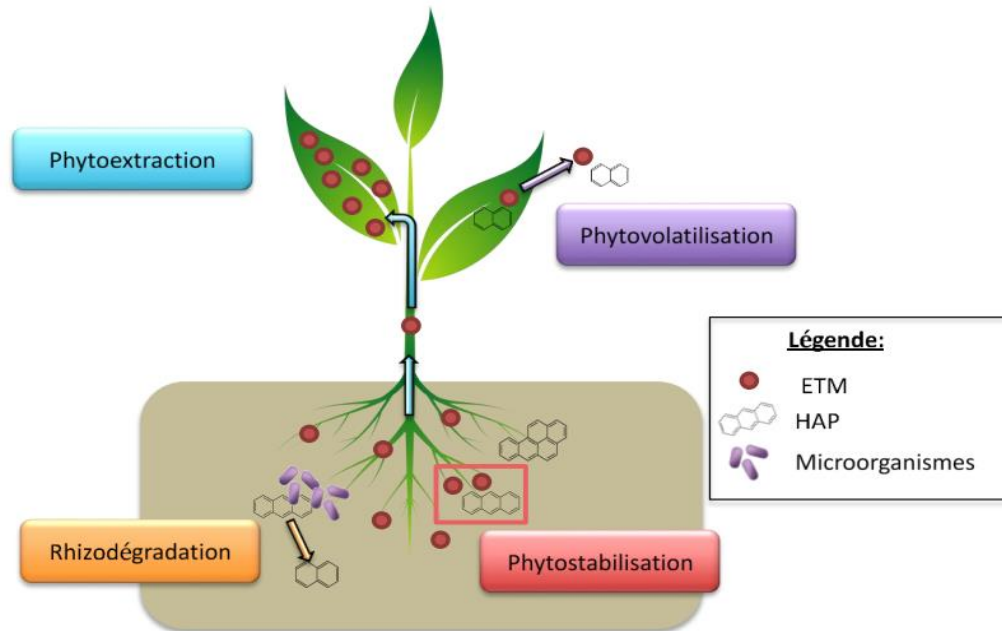
La phytoremédiation est une technologie qui exploite les plantes et les microorganismes de la rhizosphère pour extraire, transformer ou stocker les substances polluantes présentes dans les sols, les sédiments, les eaux souterraines et les eaux de surface (**Susarla et al. 2002**). Bien qu'elle soit lente, cette technique est avantageuse au plan économique et respectueuse de la microflore, un élément essentiel de la qualité des sols (**Vassilev et al. 2004**).

### II-3-2-2- Procédés utilisés en phytoremédiation

La phytoremédiation repose sur différents procédés (**Fig. 11**) :

- **Phytoextraction** : technique principalement utilisée pour extraire les ETM. Elle consiste à exploiter la capacité de certains végétaux à extraire les polluants du sol et à les transporter jusqu'aux parties aériennes, qu'on pourra ensuite récolter et traiter par incinération ou par hydrométallurgie (**Oyuela Leguizamo et al. 2017**).

- **Rhizodégradation** : technique qui consiste en une stimulation de la dégradation de contaminants organiques par des microorganismes dans la rhizosphère. Dans ce contexte, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) peuvent être dégradés par les microorganismes stimulés par les exsudations racinaires (Gerhardt et al. 2009).



**Figure 11** : Différentes techniques utilisées en phytoremédiation. Source : Wechtler (2020).

- **Phytovolatilisation** : technique qui consiste à extraire certains contaminants organiques ou métalliques du sol et les libérer dans l'atmosphère via l'évapotranspiration des parties foliaires des plantes utilisées dans un tel procédé. Ce dernier présente peu d'intérêt, puisque la pollution du sol est simplement déplacée dans l'atmosphère (Sterckeman et al. 2011).

- **Phytostabilisation** : technique utilisée pour empêcher ou limiter la mobilité des polluants. Les végétaux utilisés peuvent stabiliser ces polluants au niveau racinaire par accumulation ou adsorption, ainsi que par précipitation notamment dans le cas des ETM (Sterckeman et al. 2011).

### II-3-2-3- Types de plantes adaptées à la phytoremédiation

Les métalphytes sont assez tolérantes aux métaux et sont utiles en phytostabilisation et phytovolatilisation, mais beaucoup moins en phytoextraction en raison de la faible capacité à accumuler les métaux au niveau des parties aériennes.



Les plantes hyper accumulatrices sont en revanche douées d'une capacité d'accumuler et de stocker des métaux, 10 à 500 fois dans leurs parties aériennes que les autres espèces végétales (**Baker et al. 1997**).

#### **II-3-2-4- Limites de la phytoremédiation**

Si la phytoremédiation permet d'améliorer la qualité globale d'un sol, sa biodiversité et sa texture, elle est cependant assez lente dans la durée afin de la concrétiser. En effet, l'efficacité d'une dépollution est dépendante des cycles de croissance d'un végétal, qui lorsqu'il est annuel et lent ne permet pas de traiter un sol très rapidement. **Salt et al. (1995)** estiment que l'utilisation de plantes hyper accumulatrices nécessiteraient 13 à 16 ans pour dépolluer un site.

Il est important de savoir traiter convenablement la biomasse végétale générée lors de la phytoremédiation, afin d'éviter le risque de contaminer un des intervenants impliqués au sein d'une chaîne alimentaire (**Khan et al. 2004**).

#### **II-4- Application au cadmium / chrome**

Le cadmium est un polluant largement répandu, classé au 7<sup>ème</sup> rang parmi la vingtaine d'éléments toxiques. Sa valence la plus courante dans l'environnement est  $Cd^{2+}$ , qui est probablement la seule valence du Cd dans les systèmes aqueux. Il exerce une influence négative sur les systèmes enzymatiques cellulaires (**Das et al. 1997 ; Andresen and Küpper, 2013 ; Genchi et al. 2020**).

Le chrome forme exclusivement des liaisons de covalence et appartient à la famille des métaux de transition. Dans l'environnement, il existe principalement sous deux formes stables, le Cr trivalent et le Cr hexavalent. Ce dernier est plus toxique que toutes les autres formes connues du Cr (**Shanker et al. 2005 ; Singh et al. 2013 ; Shahid et al. 2017**).

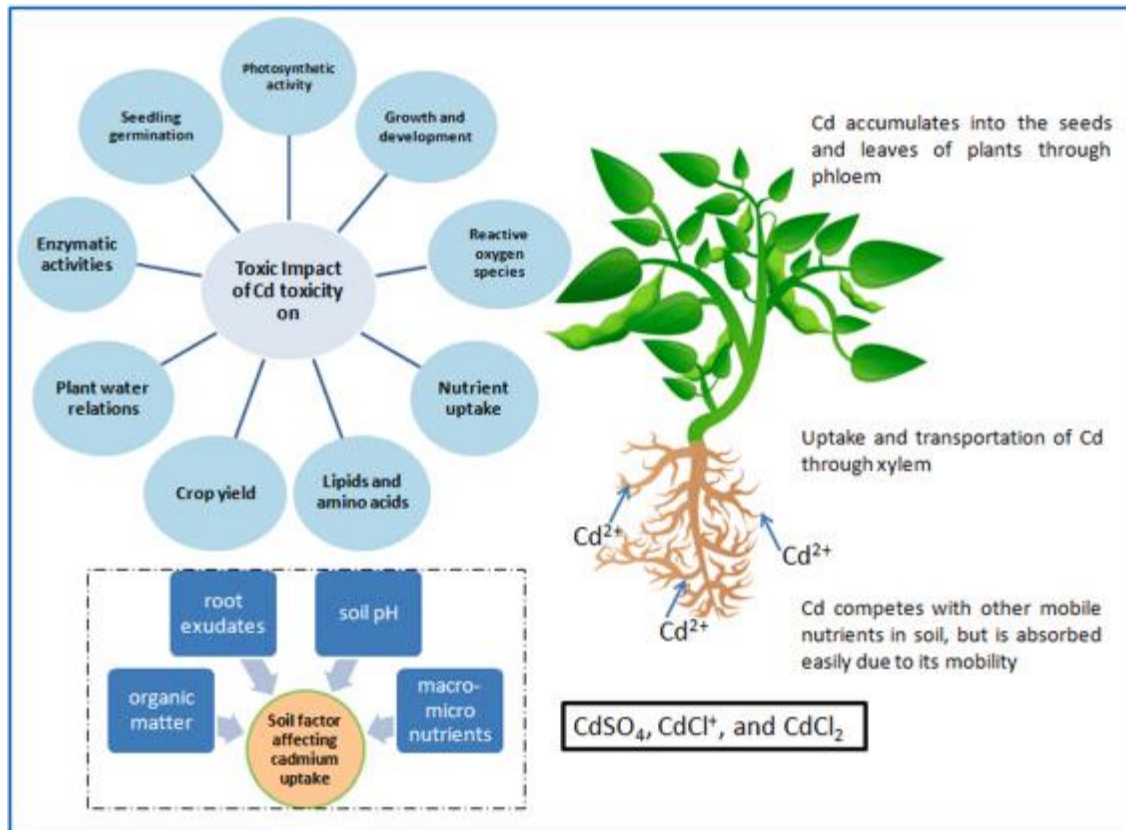
##### **II-4-1- Cadmium**

###### **II-4-1-1- Effets sur la germination**

La germination est un stade critique dans le cycle de vie et du développement d'une plante, au cours duquel des transformations physiologiques, biochimiques et morphologiques importantes se produisent. Il a été démontré que le Cd peut causer un retard dans la germination induire des dommages membranaires, entraver la mobilisation des réserves alimentaires en augmentant les ratios cotylédons/embryon des sucres solubles totaux, du glucose, du fructose et des acides aminés (**De la Rosa et al. 2004**) (**Fig. 12**).

Le transport de l'eau diminue de deux à quatre fois selon l'espèce et la concentration du Cd, laquelle diminution est due principalement à l'inhibition de la division et de l'élongation des cellules du xylème (Barceló et al. 1988 ; Marchiol et al. 1996).

Les effets inhibiteurs des fortes concentrations pourraient être, en grande partie, expliqués par une action inhibitrice des métaux lourds sur les enzymes chargées de la reprise de la vie et sur l'édification d'une nouvelle plante ; et/ou sur les activités hydrolytiques au cours de la germination des graines (Chugh and Sawhney, 1999 ; Bansal et al. 2001).



**Figure 12** : Absorption, translocation, accumulation et effets inhibiteurs du cadmium sur la croissance et le développement des plantes. Source : Haider et al. 2021.

#### II-4-1-2- Effets sur la croissance

Présent en concentrations élevées, les symptômes les plus communs que présente les plantes cultivées en présence du Cd sont l'inhibition de la croissance, la diminution de la biomasse, chloroses, nécroses, perturbation du flux d'eau et de la photosynthèse, déficience en phosphore et en azote (Cosio et al. 2005 ; Clemens, 2006 ; Haider et al. 2021) (Fig. 12).

L'effet toxique du Cd sur les plantes se manifeste par une réduction de la croissance des parties aériennes et racinaires, affectant de ce fait la production de biomasse (Fig. 12).

La réduction touchant les parties aériennes est accompagnée de changements anatomiques, structuraux et ultra structuraux importants au niveau des feuilles, pendant que la réduction de la croissance racinaire est causée par une inhibition des divisions cellulaires et de la synthèse de polysaccharides pariétaux (**Punz and Sieghardt, 1993 ; Baryla et al. 2001**).

La biomasse est réduite suite aux effets inhibiteurs du Cd sur l'activité de la nitrate réductase, l'absorption et le transport des nitrates des racines vers les parties aériennes ainsi que sur les chlorophylles et l'activité photosynthétique. Une diminution de la capacité photosynthétique imposée par le Cd est expliquée par la désorganisation structurelle qui touche les chloroplastes ainsi que les chlorophylles et les caroténoïdes. D'autre part, la présence du Cd interfère avec la biodisponibilité du Fe, un élément important pour la photosynthèse (**Popova et al. 2012 ; Tran and Popova, 2013 ; Farooq et al. 2016**).

Le Cd est inducteur de l'apparition de formes réactives de l'oxygène menant à un stress oxydant. Ces formes réactives sont potentiellement nuisibles au fonctionnement des organites, en endommageant notamment leurs structures (**Benavides et al. 2005**) (**Fig. 12**).

En clair, l'exposition des plantes aux fortes doses de Cd entraîne une inhibition de la croissance et une chlorose des feuilles, liées à un dysfonctionnement de l'équilibre hydrique (perturbation de l'ouverture des stomates et interférences avec le transport d'éléments essentiels), de la machinerie photosynthétique et des enzymes du métabolisme. Ce sont les racines, en contact direct avec la substance toxique, qui seront en premier touchées avant de se propager aux autres parties de la plante (**Baker and Walker, 1989 ; Das et al. 1997 ; Clemens, 2006 ; Haider et al. 2021**) (**Fig. 12**).

#### **II-4-1-3- Réponses apportées à la phytotoxicité du cadmium**

Contre le Cd, les stratégies développées par les plantes sont apportées d'abord au niveau racinaire, où l'immobilisation du Cd peut se faire par intervention des éléments de la paroi cellulaire dont les mucilages et la callose. Dans les racines et les feuilles du haricot nain, les ions Cd semblent être principalement liés par les sites pectiques et les groupes hystidyl de la paroi cellulaire (**Wagner, 1993 ; Marchiol et al. 1996**). Cependant, l'importance de ces mécanismes est variable en fonction de la concentration du Cd, des espèces utilisées et du temps d'exposition (**Sanità di Toppi and Gabrielli, 1999**).

Autre stratégie est d'empêcher le Cd d'atteindre le cytosol grâce à l'intervention des canaux et transporteurs membranaires. C'est un moyen efficace pour éviter la toxicité d'un élément métallique. En effet, durant les premières phases de la germination des graines du radis par exemple, le Cd semble emprunter des canaux à calcium membranaires pour atteindre les espaces intracellulaires (**Rivetta et al. 1997**).

Des protéines particulières dénommées phytochélatines, interviennent pour fixer le métal et ainsi annuler sa toxicité. Ces protéines sont essentielles pour la tolérance des ETM, particulièrement pour ce qui est du Cd (**Benavides et al. 2005**).

#### **II-4-1-4- Phytoremédiation appliquée au cadmium**

Bien que le Cd ne soit pas un élément essentiel ou bénéfique pour les plantes, on le retrouve en particulier au niveau des racines, mais aussi dans les parties foliaires (**Assunção et al. 2003**). Une concentration foliaire supérieure à 100  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de poids sec (0,01%) est considérée comme exceptionnelle et est référencée comme valeur seuil d'hyper accumulation pour le Cd (**Baker et al. 2000**).

Des espèces comme *Euphorbia hirta*, *Ageratum conyzoides* et *Eleusine indica* montrent des potentialités certaines de phytoremédiation, puisqu'elles réduisent les niveaux du Cd dans les sols, respectivement de 51,8% ; 52,2% et 58,8% (**Lata et al. 2019**). De même, il a été démontré que la phytoextraction du Cd par des extraits du colza réduit les niveaux du Cd dans le sol de 60% par rapport au témoin (**Kathal et al. 2016**). A cet effet, le colza et le tournesol sont préconisés pour la rhizofiltration du Cd (**Li et al. 2018**), tandis qu'en phytostabilisation, les plantes peuvent immobiliser un polluant au niveau du sol, le rendre moins toxique et minimiser ainsi sa translocation (**Mahajan and Kaushal, 2018**).

#### **II-4-2- Chrome**

##### **II-4-2-1- Effets sur la germination**

Le Cr inhibe la germination des espèces végétales à des concentrations élevées. La phytotoxicité se traduit par une réduction de la germination, associée à une diminution de l'activité des amylases  $\alpha$  et  $\beta$ , essentielles à l'hydrolyse de l'amidon et à la mise à disposition de l'embryon en développement de sucres solubles facilement assimilables. D'autre part, l'activité de protéases augmente avec l'élévation d'un traitement au Cr, ce qui contribue à la réduction de la germination des graines traitées (**Zeid, 2001 ; Amin et al. 2019**) (**Tab. 1**).

##### **II-4-2-2- Effets sur la croissance**

La diminution de la croissance racinaire en présence du Cr a été rapportée chez de nombreuses espèces (**Shanker et al. 2005**). Elle serait due à l'inhibition des divisions cellulaires, de l'élongation racinaire ou à l'allongement du cycle cellulaire. En présence de concentrations élevées en Cr dans le milieu de croissance d'une plante, le contact direct racines – Cr, provoque une incapacité manifeste à absorber de l'eau, ce qui explique la réduction de la croissance de ces racines (**Barceló et al. 1986**) (**Tab. 1**).

Les effets adverses du Cr se répercutent négativement sur la hauteur de la partie aérienne et la croissance des pousses (**Samantaray et al. 1998**). Ces réductions sont principalement dues à l'inhibition de la croissance des racines et à la diminution conséquente du transport des nutriments et de l'eau vers les parties supérieures de la plante. De plus, la translocation du Cr vers les parties aériennes impacte directement le métabolisme cellulaire des pousses, contribuant ainsi à la réduction de la hauteur de ces plantes (**Shanker et al. 2005**) (**Tab. I**).

La croissance des feuilles, le développement de leur surface et le nombre total de feuilles sont affectées par l'utilisation du chrome notamment en concentrations élevées. Il a été observé dans ce cas des chloroses qui se transforment en nécroses (**Jain et al. 2000**), ainsi que des brûlures aux extrémités ou à la marge des feuilles (**Singh, 2001**) (**Tab. I**).

**Tableau I** : Principaux effets du chrome sur la croissance et le développement des plantes et ses incidences sur la production au final de la biomasse (**Shanker et al. 2005**).

Processus	Quelques exemples	Effets
<b>Germination</b>	<i>Echinochloa colona</i> , haricot nain, luzerne, haricot mungo, canne à sucre	Réduction du pourcentage de germination et réduction du débourrement des bourgeons
<b>Croissance racinaire</b>	<i>Salix viminalis</i> , <i>Caesalpinia pulcherrima</i> , haricot mungo, riz, sorgho	Diminution de la longueur des racines et du poids sec, augmentation du diamètre des racines et des poils absorbants, variations proportionnelles des assises de tissus du cortex et de la stèle
<b>Croissance de l'axe aérien</b>	Avoine, <i>Curcuma sativa</i> , <i>Lactuca sativa</i> , <i>Panicum miliaceum</i> , <i>Sinapsis alba</i>	Réduction de la hauteur des plantes
<b>Croissance foliaire</b>	<i>Albizia lebbek</i> , <i>Acacia holocerca</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> , riz, haricot nain	Réduction du nombre de feuilles, de la surface foliaire et de la biomasse. Feuilles trifoliées plus touchées que la feuille primaire chez les légumineuses, brûlures aux extrémités des feuilles, effet négatif sur la mésostructure des feuilles
<b>Rendement et production de matière sèche</b>	<i>Portulaca oleracea</i> , chou-fleur, chou, radis, haricot nain, maïs, éleusine, fèves	Jusqu'à 50% de réduction du rendement, réduction du nombre de fleurs par plante, réduction du poids des grains, augmentation de la déformation des grains, réduction du poids des gousses.

Toutes ces constatations se rapportant aux effets néfastes du Cr sur la croissance et le développement sont en lien avec les perturbations touchant les principaux processus physiologiques, ainsi résumés dans le tableau suivant (**Tab. 2**).

**Tableau 2** : Effets toxiques du chrome sur les processus physiologiques des plantes (**Shanker et al. 2005**).

Processus	Plante	Effets
<b>Photosynthèse</b>	Blé, pois, riz, maïs, haricot, tournesol	Inhibition du transport d'électrons, inactivation des enzymes du cycle de Calvin, réduction de la fixation du CO <sub>2</sub> , désorganisation des chloroplastes
<b>Relations hydriques</b>	Haricot nain, tournesol, haricot mungo	Diminution du potentiel hydrique, augmentation du taux de la transpiration, réduction de la résistance à la diffusion, flétrissement, réduction du diamètre des vaisseaux / trachéides
<b>Nutrition minérale</b>	Soja, tomate, haricot nain, tournesol, maïs	Absorption affectée de N, P, K, Fe, Mg, Mn, Mo, Zn, Cu, Ca et B
<b>Enzymes et autres composés</b>	<i>Nymphaea alba</i> et plusieurs autres espèces céréalières et légumières	Inhibition des enzymes assimilatrices, augmentation de l'activité des enzymes de piégeage des ROS, modification du pool du glutathion, pas de production de phytochélatines

#### II-4-2-3- Réponses apportées à la phytotoxicité du chrome et phytoremédiation

La nutrition minérale altérée en présence du Cr peut être surmontée par des approches utilisant des inoculations mycorhiziennes aux effets protecteurs contre la nocivité du Cr (**Khan, 2001**). **Davies et al. (2002)** améliorent d'ailleurs le contenu minéral des tissus, ainsi que la croissance et les échanges gazeux après avoir utilisé des champignons mycorhiziens arbusculaires vésiculaires dans le milieu de culture de plantes contenant du Cr.

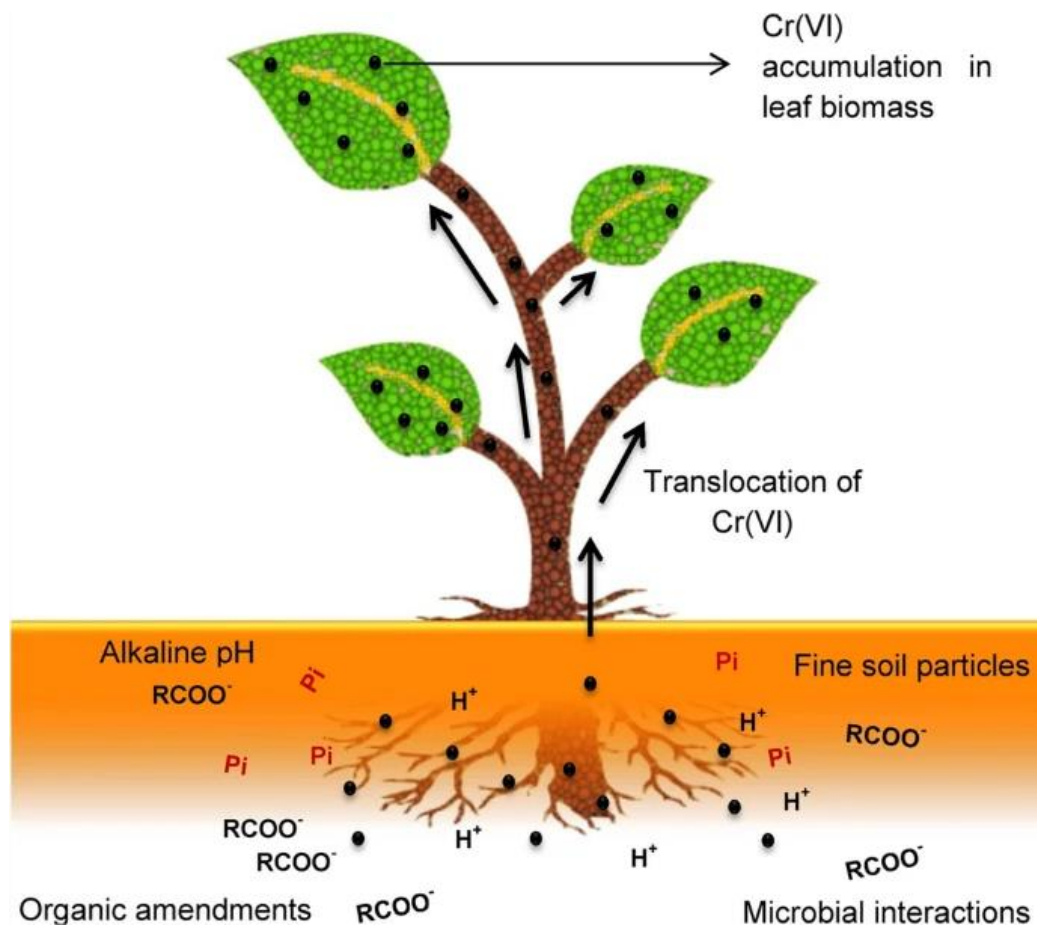
Rajouter du glutathion pour son action anti oxydante, des acides aminés libres au pouvoir de chélation des métaux, ainsi que du sulfate et du fer peuvent s'avérer très utiles pour contrer la toxicité du Cr chez les plantes cultivées (**Rausser, 1999**).

Réellement peu de travaux se sont intéressés aux mesures d'amélioration des plantes cultivées vis-à-vis de la toxicité du Cr. La plupart des travaux se sont plutôt focalisés sur la phyto accumulation du Cr en vue d'une éventuelle utilisation en phytoremédiation (**Shanker et al. 2005**).



Seulement, comme le Cr est faiblement transporté vers les parties aériennes, étant retenu principalement au niveau racinaire ; les perspectives d'utilisation des plantes en phytoremédiation en sites contaminés par le Cr seraient faibles. Néanmoins, les usages pourraient présenter un intérêt principal dans la stabilisation et la surveillance d'un site pollué (Shanker et al. 2005).

Les nouvelles approches de recherche se concentrent dès lors sur les moyens les plus efficaces pour assurer d'abord la translocation du Cr, avant son éventuelle phytoremédiation. A cet effet, il a été rapporté que les mycorhizes et les acides organiques (citrique et oxalique) jouent un rôle important en phytoremédiation des sols contaminés au Cr en améliorant l'absorption du Cr et en augmentant sa translocation vers les parties aériennes (Davies et al. 2001 ; Shanker et al. 2005) (Fig. 13).



**Figure 13** : Les acides organiques libérés des amendements et les interactions microbiennes favorisent la phytoextraction du Cr(VI) puisé du sol. Source : Das et al. 2021.

# **MATERIEL & METHODES**



### III- Matériel & Méthodes

#### III-1- Matériel

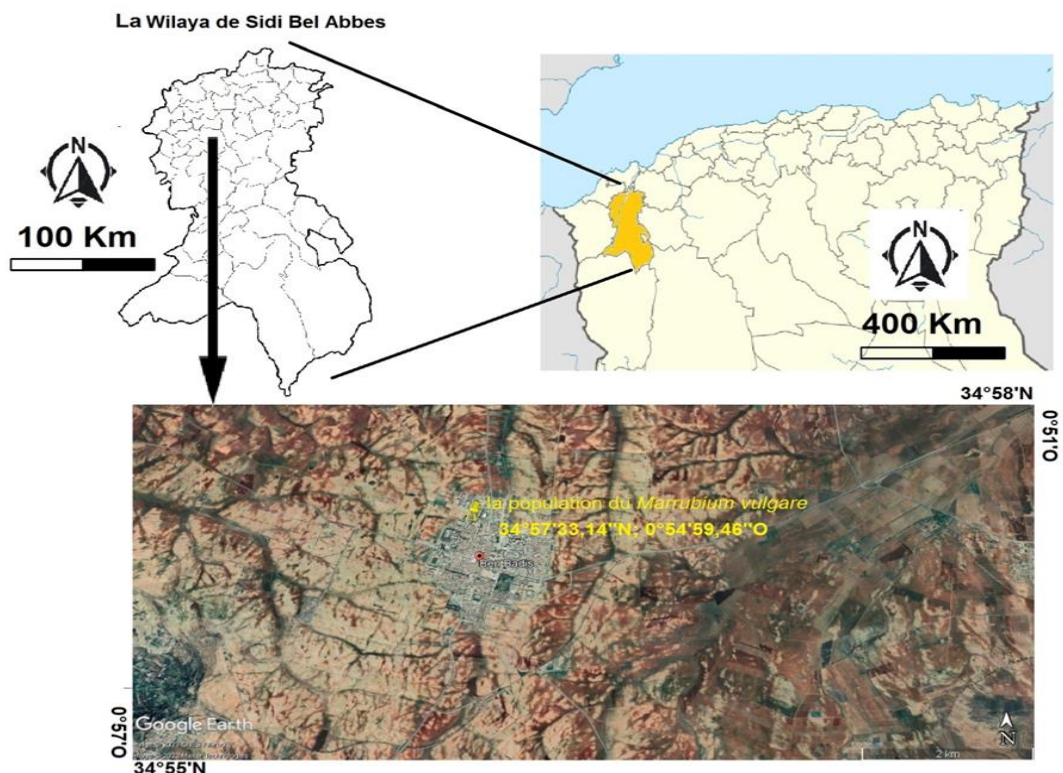
Ce travail consiste à déterminer les effets du cadmium [ $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ] et du chrome [ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ] sur la germination des graines et les premiers stades de la croissance et de développement des plantules d'une espèce appartenant à la famille des *Lamiaceae*, *Marrubium vulgare* L.

Le travail expérimental a été réalisé au niveau du laboratoire de recherche en écologie et environnement de l'université de Bejaia.

#### III-1-1- Matériel végétal

##### III-1-1-1- Origine des graines

La récolte des akènes de *Marrubium vulgare* L. s'est déroulée durant le mois de juillet de l'année 2022 depuis des plantes poussant dans la région de Ben Badis, située dans la wilaya de Sidi Bel Abbas (région du nord-ouest de l'Algérie ;  $34^\circ 57' 6''$  N ;  $0^\circ 54' 50''$  O ; altitude 708 m) (**Fig. 14**).



**Figure 14** : Carte Google positionnant le lieu de récolte des fruits de *Marrubium vulgare* L. Carte préparée par **Dadach M. (2023)**.

### III-1-1-2- Traitement des graines

Les graines minutieusement récupérées de leurs akènes, sont désinfectées par un passage dans une solution d'eau de javel (5%, v/v) durant 10 mn. Les graines sont ensuite débarrassées de leur solution désinfectante par rinçage dans six bains successifs d'eau distillée. Récupérées à l'aide d'une passoire, elles sont mises à sécher à température ambiante sur du papier absorbant (**Fig. 15**).



**Figure 15** : Désinfection de surface des graines de *Marrubium vulgare* L. par une solution d'eau de javel à 5% (v/v) (photo de gauche), suivi d'un rinçage puis séchage sur du papier absorbant (photo de droite).

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

Les graines de *Marrubium vulgare* L. sont mises à germer dans des boîtes de pétri circulaires (9 cm de diamètre), tapissées de papier absorbant. Les graines au nombre de 25 sont déposées dans chacune de ces boîtes réparties en 3 lots différents :

- Un premier lot considéré comme lot témoin, où chacune des boîtes préparées (3 au total) est humidifiée par 7 ml d'eau distillée ;
- Un second lot considéré comme lot traité au Cd, où l'on dépose dans chacune des boîtes préparées 7 ml d'une concentration connue de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  (3 boîtes / concentration x 4 concentrations différentes de [50, 100, 150 et 200 ppm]) ;
- Un troisième lot considéré comme lot traité au Cr, où l'on dépose dans chacune des boîtes préparées 7 ml d'une concentration connue de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (3 boîtes / concentration x 4 concentrations différentes de [50, 100, 150 et 200 ppm]).

Chacune des boîtes est recouverte de son couvercle, puis scellée par du parafilm pour éviter toute évaporation d'eau ou de la solution de traitement durant les 20 jours de la durée des expérimentations.

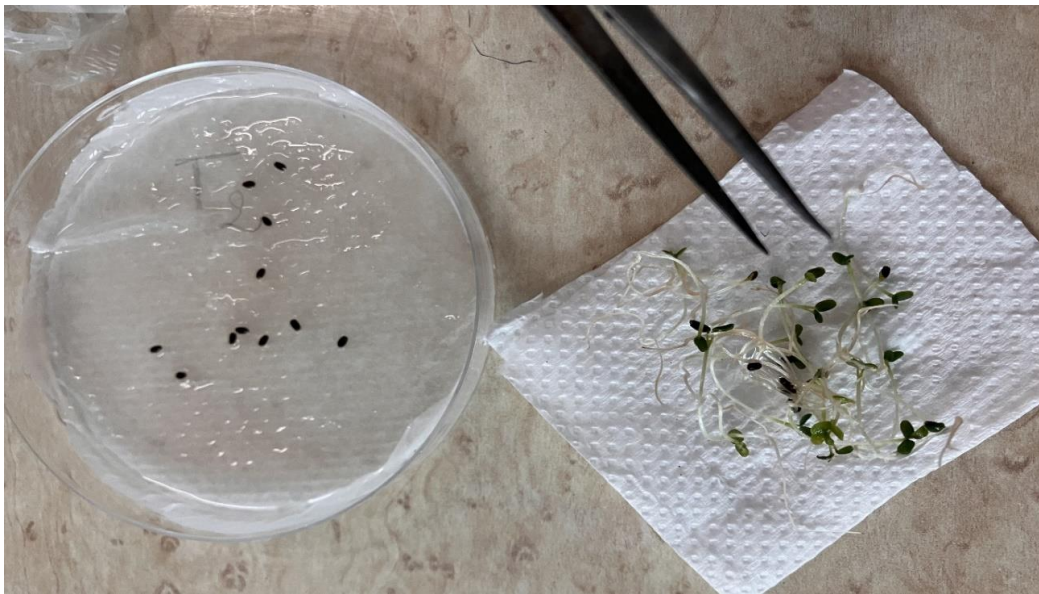
Ces boîtes sont entreposées dans une étuve à l'obscurité préalablement réglée à une température de 22°C.

Chaque jour (aux 4 premiers jours), porté à chaque 2 jours par la suite, les graines de *Marrubium vulgare* L. qui germent sont repérées et dénombrées. Le critère adopté est celui de la percée de la radicule, à longueur minimale de 2 mm (Evenari, 1957).

Il y a lieu de noter que durant ces 20 jours de suivi de la germination, les longueurs des racines ont été mesurées régulièrement tous les quatre jours.

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

Au bout du 20<sup>ème</sup> jour du suivi de la germination, les plantules qui se sont développées ont été récupérées, débarrassées de leurs téguments et réservées (Fig. 16) pour : (a) mesurer séparément les longueurs des racines et des hypocotyles, (b) déterminer la teneur en eau et (c) doser les protéines des plantules en entier.



**Figure 16** : Plantules de *Marrubium vulgare* L. de 20 jours, qui se sont développées à l'issue de la germination des graines et qui vont servir aux différentes expérimentations. C'est uniquement le lot des plantules témoins qui a été représenté dans cette figure.

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

En parallèle, des plantules de 10 jours depuis la 1<sup>ère</sup> mise à germination des différents lots de graines ont été transférées en pots en plastique à raison de 4 plantules par pot (Fig. 17). Ces pots contenant un mélange de terre naturelle et sable (v/v ; 2/1) sont régulièrement arrosés et laissés durant 6 semaines aux conditions de température et de luminosité de laboratoire. à noter que le test a été réalisé durant la période de 28 février au 11 avril.



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<sup>ème</sup> semaine depuis leur 1<sup>er</sup> repiquage en pots.



**Figure 17** : Plantules de *Marrubium vulgare* L. de 10 jours de différents lots, repiquées en pots en plastique pour suivre le développement des 1ers axes feuillés.

### III-1-2- Préparation des solutions métalliques

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

Le nitrate de cadmium est un composé inorganique, cristallin et incolore (**Fig. 18**). Il a été utilisé dans notre travail pour imposer aux graines de *Marrubium vulgare* L., un stress métallique sous sa forme  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 8/3 \text{H}_2\text{O}$  (Panreak), en solution aux concentrations de [50, 100, 150 et 200 ppm].



Formule moléculaire brute :  $\text{CdN}_2\text{O}_6$

Nom : Nitrate de cadmium

Masse molaire : 236,43 g/mol

Masse volumique : 3,6 g/cm<sup>3</sup>

Point d'ébullition : 131,9 °C

Etat physique : solide en cristaux blanc

**Figure 18** : Présentation des cristaux de nitrate de cadmium tétrahydraté et ses quelques caractéristiques physico-chimiques. Source : <http://reptox.cnesst.gouv.qc.ca>

### III-1-2-2- Solution de $K_2Cr_2O_7$

Le dichromate de potassium est un solide ionique de couleur rouge (**Fig. 19**). Dans l'eau, il se dissocie en ions dichromate et en ions potassium. Il a été utilisé dans notre travail pour imposer aux graines de *Marrubium vulgare* L., un stress métallique sous sa forme  $K_2Cr_2O_7$  (*Biochem ChemoPharma*), en solution aux concentrations de [50, 100, 150 et 200 ppm].



Formule moléculaire brute :  $K_2Cr_2O_7$

Nom IUPAC : Potassium dichromate (VI)

Masse molaire : 294,18 g/mol

Masse volumique : 2,68 g/cm<sup>3</sup>

Point d'ébullition : 500,0 °C

Etat physique : solide en cristaux rouge

**Figure 19** : Présentation des cristaux de dichromate de potassium et ses quelques caractéristiques physico-chimiques. Source : <http://reptox.cnesst.gouv.qc.ca>

## 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 jours (pendant les 4 premiers jours), puis tous les 2 jours jusqu'au 20<sup>ème</sup> jour de la durée des expérimentations. 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

Les pourcentages finaux de germination ont été déterminés au terme du 20<sup>ème</sup> jour du suivi de la germination 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

C'est un mode d'expression de la vitesse de germination d'une population de semences mises à germer dans des conditions contrôlées. Le temps moyen de germination est déterminé d'après la formule suivante (Redondo-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 depuis la germination des graines jusqu'au 20<sup>ème</sup> jour, marquant l'arrêt du suivi de la germination. Ces mesures ont été réalisées tous les 4 jours par le biais d'un papier millimétré.

Au même titre que pour les parties racinaires, du papier millimétré a été également utilisé pour mesurer la longueur des axes hypocotylés qui se sont développés au 20<sup>ème</sup> jour, marquant l'arrêt du suivi de la germination.

Le développement des premiers axes feuillés sur les plantules repiquées en pots dès le 10<sup>ème</sup> jour de la germination, a fait également l'objet de mesures. Ces mesures réalisées par du papier millimétré a été fait chaque semaine depuis la semaine correspondant au transfert des plantules en pots jusqu'au bout de la 6<sup>ème</sup> semaine marquant l'arrêt des expérimentations.

### III-2-3- Teneur en eau

La teneur en eau a été déterminée au 20<sup>ème</sup> jour de l'arrêt de suivi de la germination, depuis les pesées des poids frais et secs réalisées sur les plantules entières qui en sont issues. Cette teneur en eau a été calculée ainsi :

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

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 déterminé de la même façon 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.

### 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 d'absorbance, se manifestant par le changement de la couleur du bleu de coomassie après liaison avec les acides aminés aromatiques (tryptophane, tyrosine et phénylalanine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les protéines.

La forme anionique (liée) du colorant est bleue, et possède un spectre d'absorption maximal estimé à 595 nm. Les formes cationiques (libres) du colorant sont rouges et vertes, absorbant à 465-470 nm. Le changement d'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié, indiquant par conséquent la concentration en protéines dans l'échantillon (**Weckbecker and Cory, 1988**).

#### III-2-4-2- Extraction

Environ 20 mg de plantules récupérées au 20<sup>ème</sup> jour, sont broyées à froid, dans 2 mL de tampon Tris-HCl pH 8,1. Le broyat est centrifugé à 1300 tr/mn pendant 10 mn. Le surnageant renferme les protéines solubles.

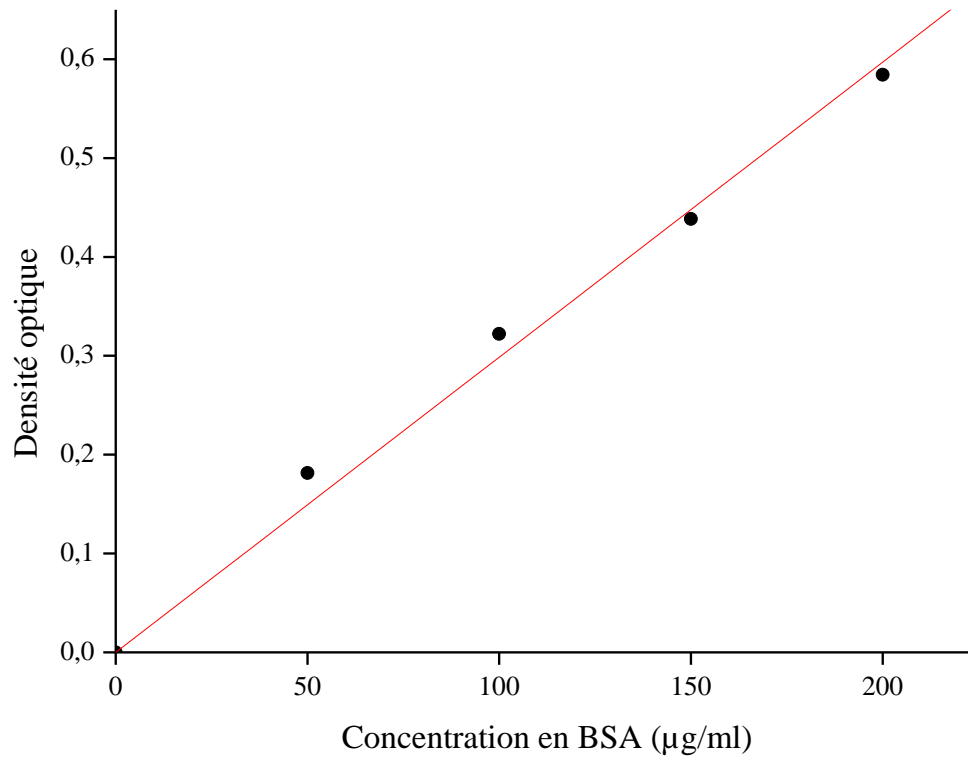
#### III-2-4-3- Dosage

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) 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 µg/mL (**Fig. 20**).

La courbe étalon tracée servira à déterminer la quantité de protéines solubles 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 appliquées et sera exprimée en mg/100 mg de poids sec.



**Figure 20** : Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de BSA (sérum albumine bovine) de 1 mg/mL (densité optique lue à  $\lambda = 595$  nm).



# **RESULTATS ET DISCUSSION**

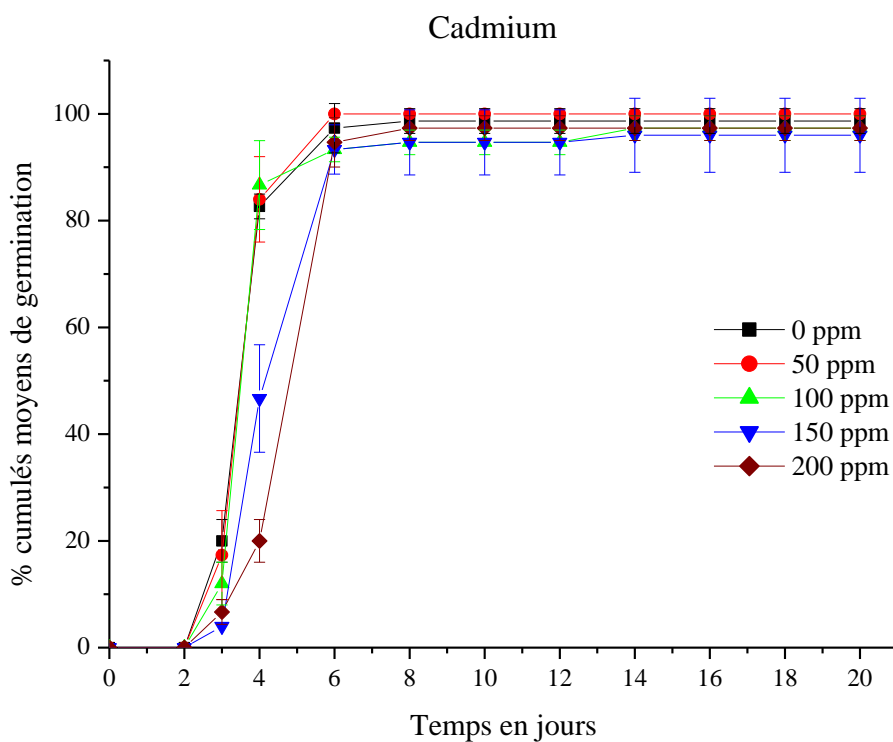
## IV- Résultats & Discussion

### 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 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$

La figure 21 ci-dessous représente les % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. traitées par différentes concentrations en cadmium [50, 100, 150 et 200 ppm] en fonction du temps. Cette illustration rend compte de la cinétique de germination adoptée par ces graines vis-à-vis des graines témoins non traitées [0 ppm].



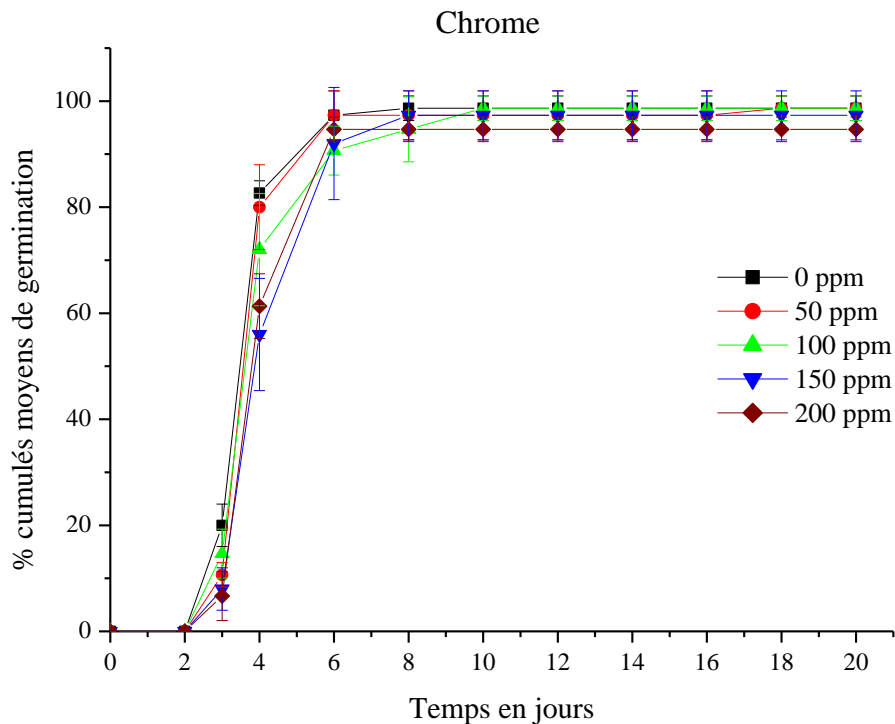
**Figure 21 :** Evolution des % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  [50, 100, 150 et 200 ppm] en fonction du temps.

Les courbes de germination représentées présentent toutes une allure sigmoïde. La germination est initiée très rapidement dès le second jour pour les graines témoins [0 ppm] et les graines traitées par les concentrations en Cd de [50 et 100 ppm]. Les deux autres concentrations de [150 et 200 ppm] retardent légèrement la percée de la radicule au 3<sup>ème</sup> jour de la germination. Au-delà, une phase exponentielle où la germination s'accélère est

observée entre le 4<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> jour et ce pour l'ensemble des lots de graines témoins et traités. Le maximum de la germination est atteint donc au 6<sup>ème</sup> jour et n'évolue plus le reste du temps. Ce maximum de germination culmine autour de 96% et plus (**Fig. 21**).

#### IV-1-1-2- Pourcentages cumulés de germination des graines traitées au $K_2Cr_2O_7$

Le suivi de la cinétique de la germination représentée par les % cumulés moyens de germination au sein des graines de *Marrubium vulgare* L. traitées par différentes concentrations en chrome [50, 100, 150 et 200 ppm] ne diffère pas de celle des graines témoins non traitées [0 ppm] (**Fig. 22**).



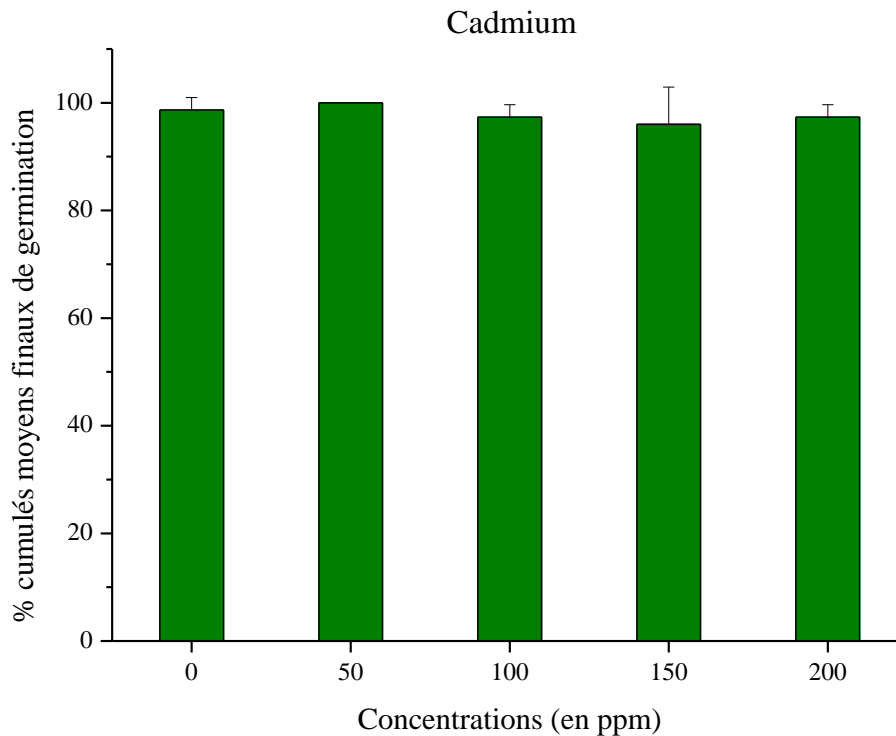
**Figure 22** : Evolution des % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en  $K_2Cr_2O_7$  [50, 100, 150 et 200 ppm] en fonction du temps.

La germination pour l'ensemble des lots commence au second jour, puis s'accélère entre le 3<sup>ème</sup> et le 4<sup>ème</sup> jour. C'est entre le 4<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> jour du suivi de la germination que nous observons des différences de % de germination entre les différents lots, particulièrement pour les lots traités par les concentrations de [100, 150 et 200 ppm] en chrome (**Fig. 22**).

Ces différences s'estompent néanmoins au 6<sup>ème</sup> jour, où les % cumulés moyens de germination des différents lots se rejoignent en tenant compte des écarts types calculés. Ainsi et au même titre que pour le cadmium, le maximum des graines qui germent lorsqu'on traite les graines au chrome, est atteint au 6<sup>ème</sup> jour et ne change plus pendant la durée restante du suivi de la germination. Ce maximum de germination est moyennement de  $97,60 \pm 1,7\%$  (Fig. 22).

#### IV-1-1-3- Pourcentages finaux de germination des graines traitées au $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$

La figure 23 représente les % cumulés moyens de germination comptabilisés 20 jours après la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines témoins et traitées par les différentes concentrations en cadmium.



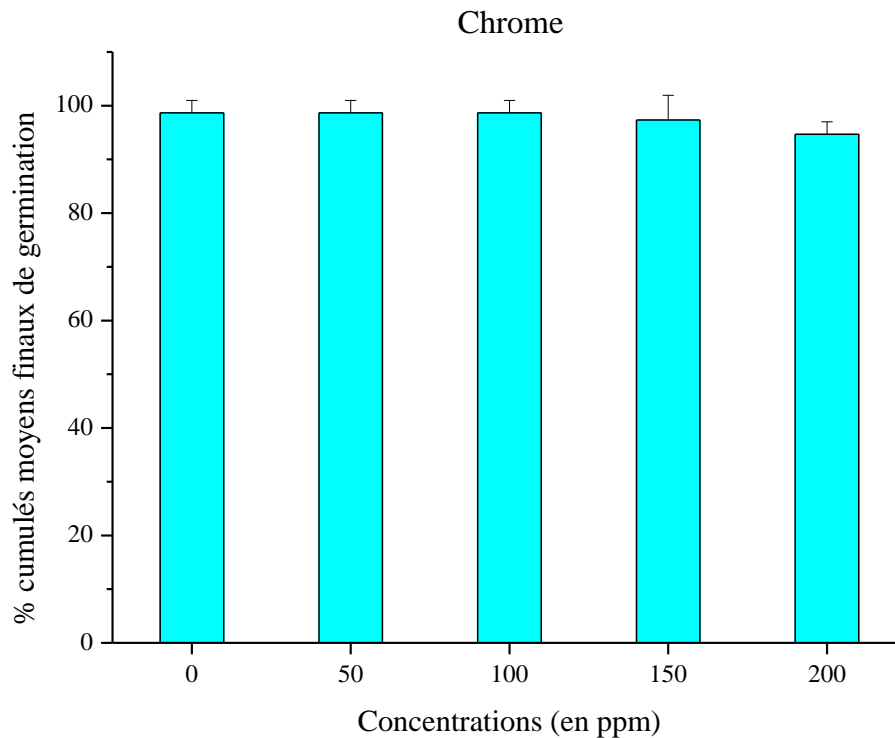
**Figure 23** : Effets des différentes concentrations en  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  [50, 100, 150 et 200 ppm] sur les % cumulés moyens finaux de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm]. Ces données sont enregistrées au 20<sup>ème</sup> jour après la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines.

La capacité germinative atteinte au final par les graines non traitées par le cadmium [0 ppm] est de  $98,67 \pm 2,31\%$ . Celle des graines traitées par les différentes concentrations en

cadmium [50, 100, 150 et 200 ppm] tourne autour du même pourcentage que celui des graines témoins, indiquant que l'agent stressant utilisé dans ces expérimentations n'a pas empêché la percée de la radicule des graines du *Marrubium vulgare* L (Fig. 23).

#### IV-1-1-4- Pourcentages finaux de germination des graines traitées au $K_2Cr_2O_7$

En utilisant le chrome aux concentrations de [50 et 100 ppm] dans le milieu de germination des graines de *Marrubium vulgare* L., on obtient au 20<sup>ème</sup> jour du suivi de la germination, des % cumulés moyens de germination équivalents à ceux obtenus chez les graines témoins ( $98,67 \pm 2,31\%$ ) (Fig. 24).

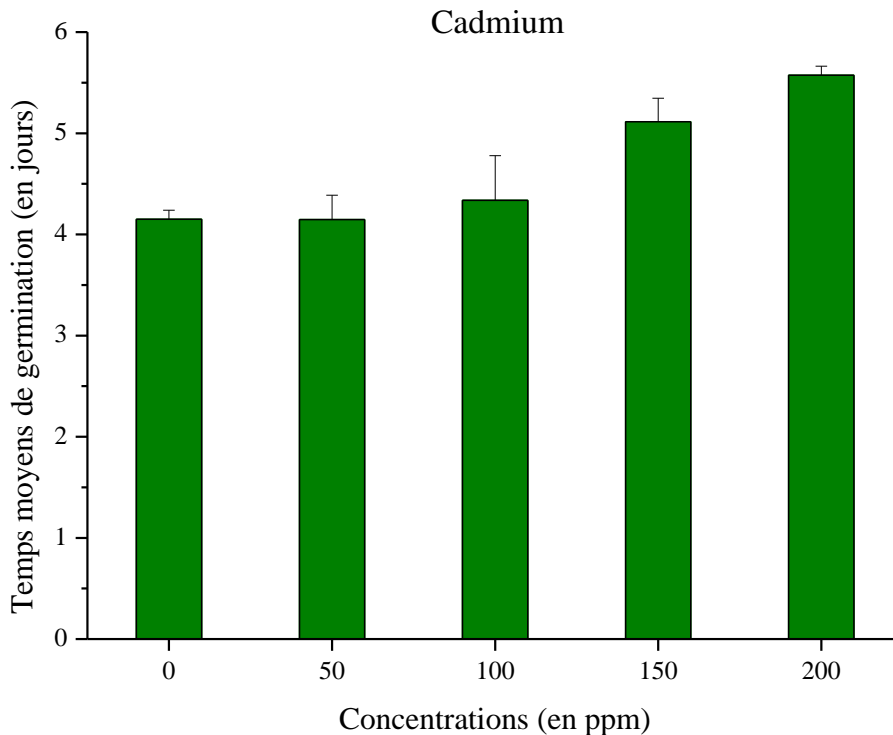


**Figure 24** : Effets des différentes concentrations en  $K_2Cr_2O_7$  [50, 100, 150 et 200 ppm] sur les % cumulés moyens finaux de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm]. Ces données sont enregistrées au 20<sup>ème</sup> jour après la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines.

Par ailleurs, on n'observe pas de différence dans le % cumulé moyen obtenu au final ( $97,33 \pm 4,62\%$ ) lorsqu'on porte la concentration du chrome à [150 ppm]. La différence est par contre observée pour le lot traité avec la concentration la plus forte en chrome [200 ppm], où la capacité germinative atteinte au final diminue à  $94,67 \pm 2,31\%$  (Fig. 24).

**IV-1-1-5- Temps moyens de germination des graines traitées au Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>**

La germination des graines témoins de *Marrubium vulgare* L. nécessite un temps moyen de germination de  $4,15 \pm 0,08$  jours. Ce temps reste sensiblement le même pour les 2 traitements en cadmium de [50 et 100 ppm] (**Fig. 25**).

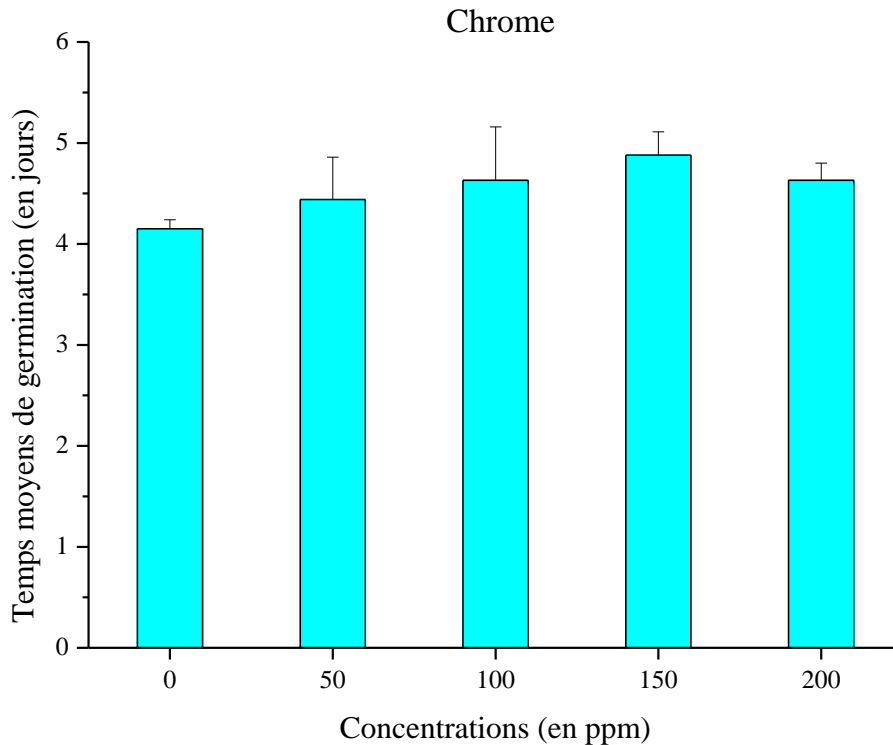


**Figure 25** : Effets des différentes concentrations en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> [50, 100, 150 et 200 ppm] sur les temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm].

En revanche, il s’allonge pour les 2 traitements en cadmium de [150 et 200 ppm], où nous enregistrons respectivement des temps moyens de germination de  $5,11 \pm 0,23$  et  $5,57 \pm 0,09$  jours (**Fig. 25**).

**IV-1-1-6- Temps moyens de germination des graines traitées au K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>**

Si le temps moyen de germination des graines témoins de *Marrubium vulgare* L. est de  $4,15 \pm 0,08$  jours, il passe à  $4,44 \pm 0,42$  jours pour une application en chrome de [50 ppm] ; à  $4,63 \pm 0,53$  jours pour une application de [100 ppm] et à  $4,88 \pm 0,23$  jours pour une application de [150 ppm] (**Fig. 26**).



**Figure 26** : Effets des différentes concentrations en  $K_2Cr_2O_7$  [50, 100, 150 et 200 ppm] sur les temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0 ppm].

Une application en chrome de [200 ppm] fait en revanche, revenir le temps moyen de germination des graines ainsi traitées à  $4,63 \pm 0,17$  jours (**Fig. 26**).

#### IV-1-1-7- Effets sur la germination des traitements au cadmium vs chrome

La cinétique de la germination des graines de *Marrubium vulgare* L. a été suivie durant 20 jours. L'allure générale des courbes est sigmoïde (**Fig. 21 et 22**), assez rapide du second au sixième jour, suivie d'un plateau qui s'étale jusqu'à la fin des observations. Ce plateau rend compte du maximum de graines qui germent, qui n'évolue plus à partir du jour 6. Ces observations s'appliquent aux 2 traitements appliqués, qu'il soit par le Cd (**Fig. 21**) ou par le Cr (**Fig. 22**), et ne s'écartent pas vis-à-vis de ce qui a été rapporté pour le lot des témoins (**Fig. 21 et 22**).

Pour déclencher la germination des graines, un temps de latence a été nécessaire ; il est de 2 à 3 jours pour l'ensemble des lots témoins et traités.



Le seul point où des différences sont observées se situe au 4<sup>ème</sup> jour, beaucoup plus dans le cas du traitement au Cd que dans le traitement au Cr. En effet et pour le Cd, le nombre de graines germant au 4<sup>ème</sup> jour est le même pour les concentrations de [50 ppm] et [100 ppm], assez supérieur à celui des graines traitées à [150 ppm] et encore plus élevé lorsque le traitement est porté à [200 ppm] (**Fig. 21 & Tab. 3**).

Avec le traitement au Cr et en tenant compte des écart-types enregistrés, peu de différences sont constatées entre les différents lots, toutefois le % cumulé moyen de germination atteint pour la concentration de [200 ppm] est 3 fois plus élevé que celui du traitement équivalent en Cd (**Fig. 22 & Tab. 3**) :

**Tableau 3** : Pourcentages cumulés moyens enregistrés au 4<sup>ème</sup> jour du suivi de la germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en Cd et Cr.

% cumulés moyens de germination enregistrés au 4 <sup>ème</sup> jour					
	Témoins	[50 ppm]	[100 ppm]	[150 ppm]	[200 ppm]
<i>Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></i>	82,67±2,3	84,00±8,0	86,66±8,3	46,66±10,0	20,00±4,0
<i>K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub></i>		80,00±8,0	72,00±10,5	56,00±10,5	61,33±6,1
<i>Rapport</i>	1	1,05	1,20	0,83	0,32

La capacité germinative des graines de *Marrubium vulgare* L. n’a pas été entravée ni par le traitement au Cd (**Fig. 23 & Tab. 4**), ni par le traitement au Cr (**Fig. 24 & Tab. 4**), puisque les % cumulés moyens obtenus au bout du 20<sup>ème</sup> jour du suivi de la germination culmine autour de 97%. Le rapport Cd/Cr est voisin de 1 et ne change pas lorsqu’on augmente la concentration de l’agent traitant (**Tab. 4**).

**Tableau 4** : Pourcentages cumulés moyens finaux enregistrés au 20<sup>ème</sup> jour du suivi de la germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en Cd et Cr.

% cumulés moyens de germination enregistrés au 20 <sup>ème</sup> jour					
	Témoins	[50 ppm]	[100 ppm]	[150 ppm]	[200 ppm]
<i>Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></i>	98,67±2,3	100,0±0,0	97,33±2,3	96,00±6,9	97,33±2,3
<i>K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub></i>		98,67±2,3	98,67±2,3	97,33±4,6	94,67±2,3
<i>Rapport</i>	1	1,01	0,98	0,98	1,02

Considérant le temps moyen mis par les graines de *Marrubium vulgare* L. pour germer, l'analyse du rapport Cd/Cr indique le même temps pour les concentrations de [50, 100 et 150 ppm], étant donné qu'il est sensiblement égal à 1. Ce temps moyen augmente pour la concentration la plus élevée, de [200 ppm], traduisant un effet plus retardant du Cd que du Cr (**Tab. 5**).

**Tableau 5** : Temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en Cd et Cr.

		<i>Temps moyens de germination (en jours)</i>				
	Témoins	[50 ppm]	[100 ppm]	[150 ppm]	[200 ppm]	
<i>Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></i>	4,15±0,08	4,14±0,24	4,33±0,44	5,11±0,23	5,57±0,09	
<i>K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub></i>		4,44±0,42	4,63±0,53	4,88±0,23	4,63±0,17	
<i>Rapport</i>	1	0,93	0,93	1,04	1,20	

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

Au cours des 20 premiers jours du suivi de la germination, les longueurs racinaires en développement ont été mesurées au cours du temps, et ce pour les témoins, les traités au Cd et au Cr.

##### IV-1-2-1- Longueur racinaire des traités au Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

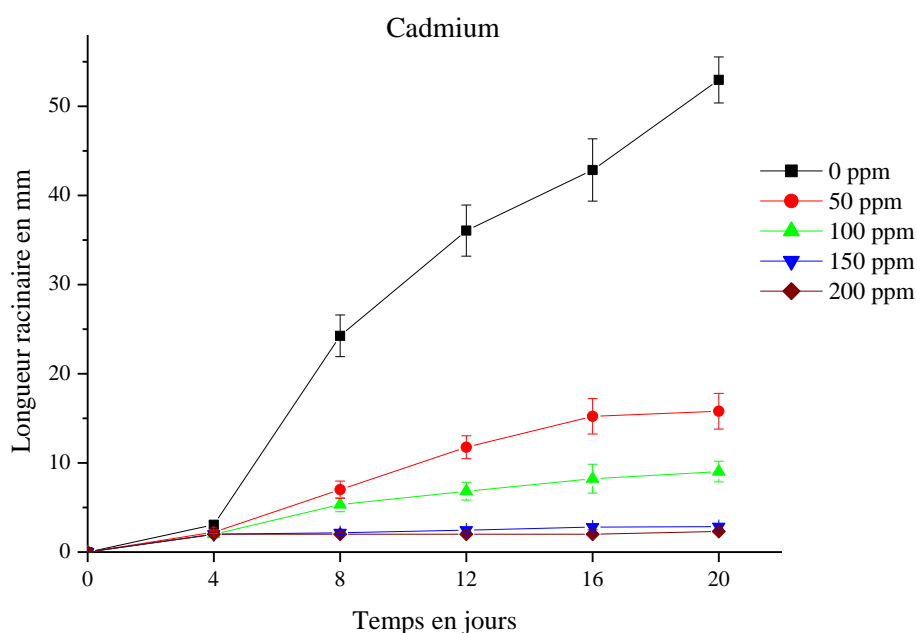
La figure 27 représente la cinétique de l'évolution des longueurs racinaires pour les plantules témoins et les plantules dont les graines ont été traitées par les différentes concentrations en cadmium [50, 100, 150 et 200 ppm].

La longueur racinaire des plantules témoins [0 ppm] progresse au cours du temps. Cette progression se décline en une phase assez rapide qui va du 4<sup>ème</sup> au 12<sup>ème</sup> jour où la longueur racinaire moyenne évolue de 3,06 ± 0,4 à 36,06 ± 2,8 mm. Par contre, au cours de la phase qui dure du 12<sup>ème</sup> au 20<sup>ème</sup> jour, la progression de cette longueur est amortie de moitié, n'évoluant que de 36,06 ± 2,8 à 52,96 ± 2,5 mm (**Fig. 27**).

Les longueurs racinaires des plantules dont les graines ont été préalablement traitées par le cadmium n'évoluent que peu lorsque le traitement est de [50 ou 100 ppm]. La longueur maximum atteinte est de seulement 15,08 ± 2,0 mm pour le premier traitement et de 9,03 ± 1,1 mm pour le second traitement (**Fig. 27**).

Les traitements les plus forts de [150 et 200 ppm] ne permettent aucune évolution notable des longueurs racinaires puisque les mesures enregistrées sont respectivement de  $2,85 \pm 0,2$  mm et  $2,31 \pm 0,1$  mm juste au-dessus des valeurs de 2 mm qui nous permettent de comptabiliser la graine comme étant germée (**Fig. 27**).

A noter que les racines apparues brunissent sensiblement indiquant que l'agent traitant affecte la croissance de ces racines.



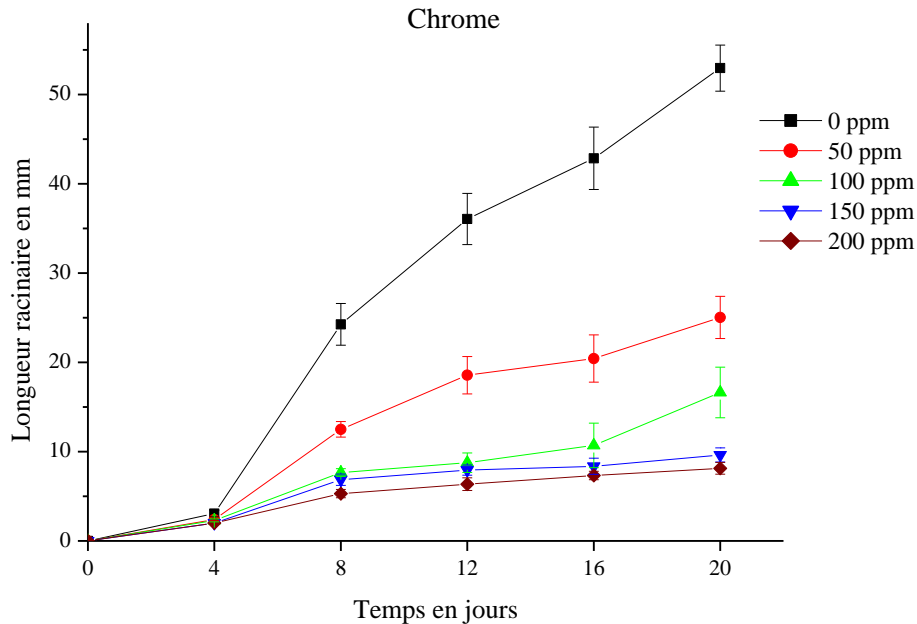
**Figure 27** : Evolution des longueurs racinaires moyennes des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations en  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  [50, 100, 150 et 200 ppm] en fonction du temps.

#### IV-1-2-2- Longueur racinaire des traités au $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

Si la longueur racinaire des plantules témoins [0 ppm] augmente du 4<sup>ème</sup> au 20<sup>ème</sup> jour pour atteindre une longueur moyenne de  $52,96 \pm 2,5$  mm, celle des plantules traitées par le chrome est affectée par les différentes concentrations [50, 100, 150 et 200 ppm] préalablement appliquées aux graines de *Marrubium vulgare* L. au cours de leur germination (**Fig. 28**).

Ainsi, la longueur racinaire des plantules issues d'un traitement au chrome de [50 ppm] ne progresse au cours du temps que de moitié par rapport à ce qui a été mesuré chez les plantules témoins. Ainsi et au bout du 20<sup>ème</sup> jour, cette longueur racinaire mesurée n'est que de  $25,03 \pm 2,3$  mm (**Fig. 28**).

En appliquant une concentration plus élevée en chrome [100 ppm], une réduction plus élevée de l'évolution au cours du temps des longueurs racinaires de ces plantules est observée. La longueur racinaire maximum atteinte n'est que de  $16,63 \pm 2,8$  (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  $K_2Cr_2O_7$  [50, 100, 150 et 200 ppm] en fonction du temps.

Avec des applications encore plus élevées en chrome [150 et 200 ppm], l'évolution des longueurs racinaires est encore plus faible. Les mesures réalisées au 20<sup>ème</sup> jour donnent une longueur racinaire de  $9,63 \pm 0,7$  mm pour le traitement de [150 ppm] et  $8,13 \pm 0,6$  mm pour le traitement de [200 ppm] (Fig. 28).

Comme dans le cas du traitement au cadmium, il y a lieu de noter que le traitement au chrome induit des brunissements sensibles des racines apparues.

#### IV-1-2-3- Effets sur la longueur racinaire des traitements au cadmium vs chrome

La cinétique des longueurs racinaires a été suivie durant les 20 premiers jours depuis la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines de *Marrubium vulgare* L. Les longueurs racinaires des traités par le Cd d'une part et le Cr d'autre part, sont affectés par le stress métallique lorsqu'on les compare individuellement aux témoins, et ce que ce soit durant la phase allant du 4<sup>ème</sup> au 12<sup>ème</sup> ou bien durant la phase s'étalant du 12<sup>ème</sup> au 20<sup>ème</sup> jour (Fig. 27 et 28).

Au 4<sup>ème</sup> jour, le Cd réduit la croissance racinaire de la même façon que le Cr, et ce quel que soit la concentration utilisée. Le rapport Cr/Cd étant sensiblement égal à 1 (**Tab. 6**).

En prolongeant la durée du stress métallique au 12<sup>ème</sup> jour, la longueur racinaire est beaucoup plus affectée par l'effet du stress induit par le Cd que par le stress induit par le Cr. Ceci est d'autant vrai pour l'ensemble des concentrations testées, particulièrement les concentrations de [150 et 200 ppm] où le rapport est de l'ordre de 3,2 (**Tab. 6**).

En laissant les racines pousser jusqu'au 20<sup>ème</sup> jour, les rapports Cr/Cd ne changent pas ou peu de ce qui a été observé lorsque les mesures ont été réalisées au 12<sup>ème</sup> jour. Ce qui indique que la croissance racinaire est non seulement ralentie et également affectée par le Cd et le Cr (**Tab. 6**).

**Tableau 6** : Rapport Cr / Cd et longueurs racinaires moyennes des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations [50, 100, 150 et 200 ppm] en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> et en K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> en fonction du temps (4<sup>ème</sup>, 12<sup>ème</sup> et 20<sup>ème</sup> jour).

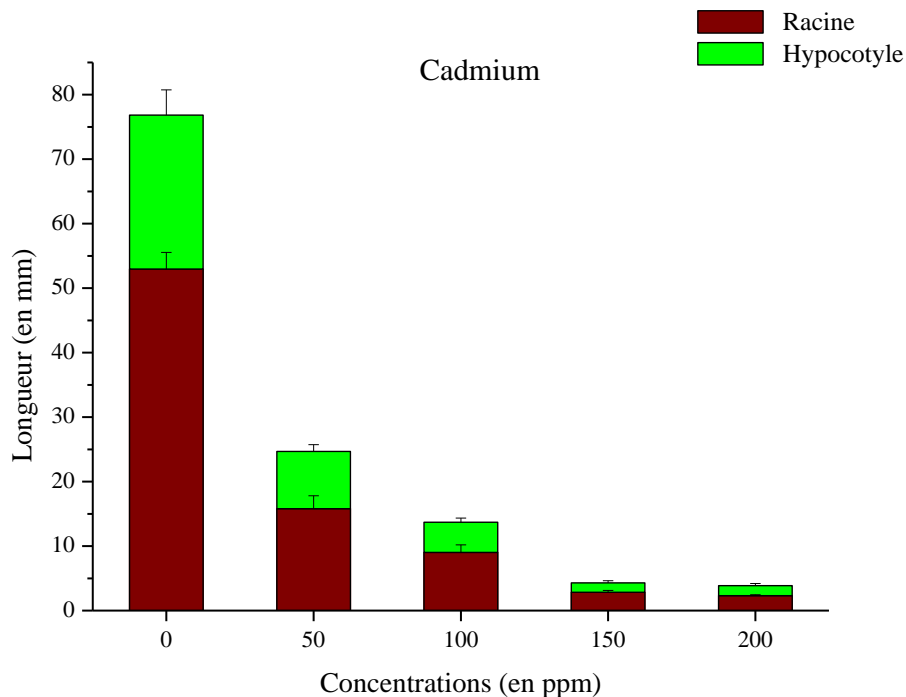
		Longueur racinaire (en mm)		
		4 <sup>ème</sup> jour	12 <sup>ème</sup> jour	20 <sup>ème</sup> jour
Témoins	[0 ppm]	3,06±0,38	36,06±2,87	52,96±2,58
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	[50 ppm]	2,23±0,15	11,76±1,29	15,80±2,00
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>		2,40±0,17	18,56±2,09	25,03±2,36
Cr / Cd		1,07	1,57	1,58
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	[100 ppm]	2,00±0,00	5,80±1,00	9,03±1,16
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>		2,30±0,16	10,20±1,09	16,63±2,83
Cr / Cd		1,15	1,75	1,84
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	[150 ppm]	2,00±0,00	2,46±0,20	2,85±0,28
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>		2,00±0,00	7,93±0,57	9,63±0,79
Cr / Cd		1	3,22	3,37
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	[200 ppm]	2,00±0,00	2,00±0,00	2,31±0,16
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>		2,00±0,00	6,36±0,71	8,13±0,66
Cr / Cd		1	3,18	3,51

### IV-1-3- Longueur des axes hypocotylés

En sus des longueurs racinaires (**Fig. 27 et 28 ; Tab. 6**) et à l'issue des 20 jours du déroulement de la germination, les axes hypocotylés des plantules de *Marrubium vulgare* L. ont été mesurés pour les témoins et les plantules dont les graines ont été au préalable traitées par le Cd et le Cr.

#### IV-1-3-1- Longueur des axes hypocotylés des traités au Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

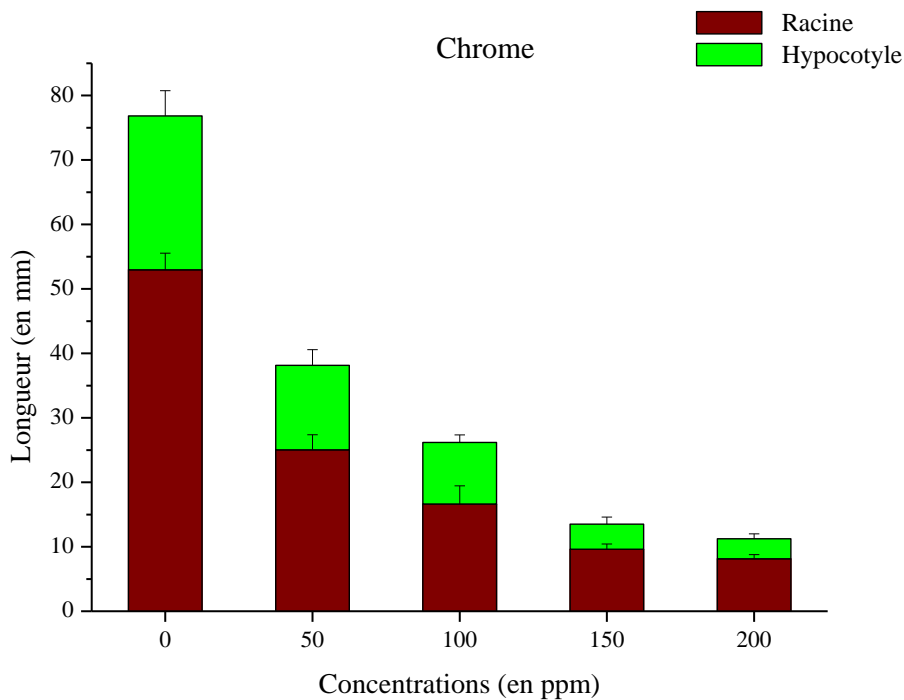
Si les axes hypocotylés des plantules témoins atteignent une longueur moyenne de  $23,88 \pm 3,9$  mm, ceux des plantules issues d'un traitement au préalable au Cd n'est que de  $8,88 \pm 1,0$  mm lorsque la concentration appliquée est de [50 ppm]. En portant la concentration à [100 ppm], cette longueur ( $4,66 \pm 0,6$ ) est de presque moitié moins importante que la précédente. Les concentrations les plus fortes [150 et 200 ppm], n'assurent un développement que minime de cet axe, soit respectivement de  $1,44 \pm 0,3$  et  $1,55 \pm 0,3$  mm (**Fig. 29**).



**Figure 29** : Effets des différentes concentrations en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> [50, 100, 150 et 200 ppm] sur les longueurs des axes hypocotylés, en sus des longueurs racinaires, des plantules de *Marrubium vulgare* L. comparativement à ceux respectivement des témoins [0 ppm]. Les mesures ont été réalisées au 20<sup>ème</sup> jour depuis la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 9 mesures différentes  $\pm$  intervalle de confiance.

#### IV-1-3-2- Longueur des axes hypocotylés des traités au $K_2Cr_2O_7$

En appliquant du Cr sous une concentration de [50 ppm], l'axe hypocotylé moyen des plantules qui en sont issues ne mesure que  $13,11 \pm 2,4$  mm par rapport à la longueur moyenne mesurée chez le témoin ( $23,88 \pm 3,9$  mm). En portant la concentration à [100 ppm], les longueurs moyennes mesurées sont encore plus faibles, ne dépassent pas 10 mm. Les concentrations de [150 et 200 ppm] affectent encore plus le développement de l'axe hypocotylé, puisque les longueurs moyennes enregistrées ne dépassent pas 4 mm (**Fig. 30**).



**Figure 30** : Effets des différentes concentrations en  $K_2Cr_2O_7$  [50, 100, 150 et 200 ppm] sur les longueurs des axes hypocotylés, en sus des longueurs racinaires, des plantules de *Marrubium vulgare* L. comparativement à ceux respectivement des témoins [0 ppm]. Les mesures ont été réalisées au 20<sup>ème</sup> jour depuis la 1<sup>ère</sup> 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 cadmium vs chrome

Au même titre que pour les longueurs racinaires, les longueurs des axes hypocotylés des plantules issues des traitements métalliques appliqués au préalable aux graines, sont réduits par rapport à ceux des témoins (**Fig. 29 et 30**), un peu plus pour le traitement au Cd que pour le traitement au Cr, et ce quel que soit la concentration appliquée (**Tab. 7**).



C'est ce qui est indiqué par l'analyse du rapport Cr / Cd, où la concentration de [50 ppm] montre des longueurs des axes hypocotylés près de 1,5 fois plus longs chez les traités au Cr que chez les traités au Cd. Cette différence est de 2 lorsque la concentration est de [100 ppm], portée à 2,7 lorsque la concentration est de [150 ppm]. Elle tend à revenir à 2 lorsque la concentration est de [200 ppm], indiquant que l'effet du Cr porte aussi bien atteinte que le Cd à l'évolution de cet axe (**Tab. 7**).

**Tableau 7** : Longueurs des axes hypocotylés moyennes des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées (témoins) et des graines traitées par différentes concentrations [50, 100, 150 et 200 ppm] en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> et en K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. Les mesures ont été réalisées au 20<sup>ème</sup> jour depuis la 1<sup>ère</sup> mise à germination et représentent une valeur moyenne de 9 mesures différentes ± intervalle de confiance.

*Longueur moyenne des axes hypocotylés (en mm)*

	Témoins	[50 ppm]	[100 ppm]	[150 ppm]	[200 ppm]
<i>Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></i>	23,88±3,92	8,88±1,05	4,66±0,65	1,44±0,34	1,55±0,34
<i>K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub></i>		13,11±2,43	9,55±1,18	3,88±1,10	3,11±0,76
<i>Cr / Cd</i>	1	1,47	2,04	2,69	2,00

En associant les mesures réalisées aussi bien sur les racines que sur les axes hypocotylés, les plantules se montrent globalement plus affectés par le Cd que par le Cr. Si la concentration de [50 ppm] montre des plantules 1,5 fois plus longues chez les traités au Cr que chez les traités au Cd. Cette différence est portée à 2 pour la concentration de [100 ppm], puis à 3 pour les concentrations de [150 et 200 ppm] (**Tab. 8**).

**Tableau 8** : Longueurs des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées (témoins) et des graines traitées par différentes concentrations [50, 100, 150 et 200 ppm] en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> et en K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. Les mesures ont porté sur les longueurs racinaires qu'on a additionnées aux longueurs des axes hypocotylés.

*Longueur moyenne des plantules (en mm)*

	Témoins	[50 ppm]	[100 ppm]	[150 ppm]	[200 ppm]
<i>Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></i>	76,84±6,50	24,68±3,05	13,69±1,81	4,29±0,62	3,86±0,50
<i>K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub></i>		38,14±4,79	26,18±4,01	13,51±1,89	11,24±1,42
<i>Cr / Cd</i>	1	1,54	1,91	3,14	2,91

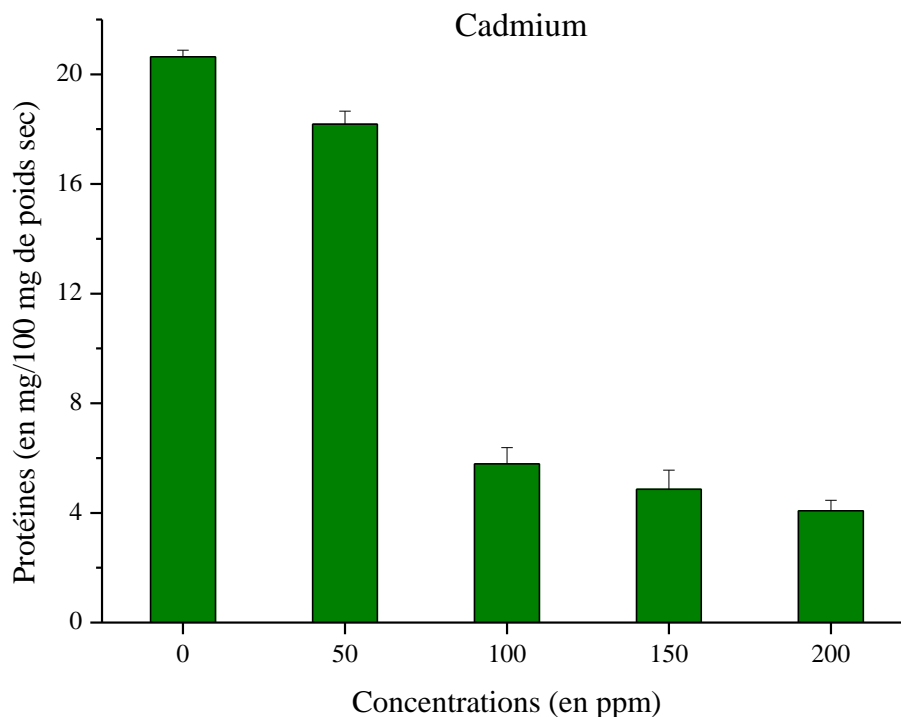
#### IV-1-4- Contenu en protéines

Le contenu protéinique des plantules de *Marrubium vulgare* L. a été dosé à l'issue des 20 jours du déroulement de la germination. Ce contenu a été exprimé en mg/100 mg de matière végétale sèche.

##### IV-1-4-1- Protéines des traités au Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

Le contenu protéinique des plantules témoins, dont les graines n'ont pas été traitées par l'agent métallique, est de  $20,64 \pm 0,24$  mg/100 mg de poids sec.

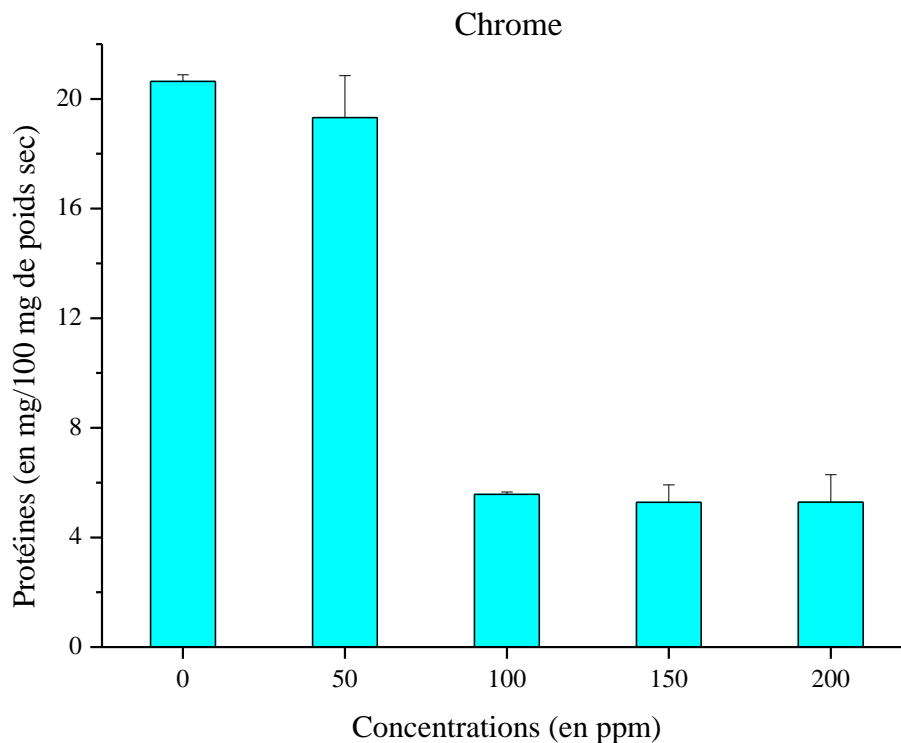
Si un traitement de [50 ppm] en Cd ne fait diminuer ce contenu que de 12%, les traitements les plus forts réduisent de façon plus conséquente ce contenu protéinique. Ainsi, les pourcentages d'inhibition calculés sont de 72% pour le traitement de [100 ppm], de 76% pour le traitement de [150 ppm] et de 80% pour le traitement de [200 ppm] (**Fig. 31**).



**Figure 31** : Effets des différentes concentrations en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> [50, 100, 150 et 200 ppm] sur les quantités en protéines (mg/100 mg de poids sec) des plantules de *Marrubium vulgare* L. Les dosages ont été réalisés au 20<sup>ème</sup> jour depuis la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 3 dosages différents ± écart-type.

#### IV-1-4-2- Protéines des traités au $K_2Cr_2O_7$

Des applications de Cr réduisent le contenu protéinique des plantules issues de la germination des graines soumises au préalable a ce type de stress métallique. Le pourcentage d'inhibition n'étant que de 6,4% pour une application en chrome la plus faible ([50 ppm]), il passe moyennement à 74% pour les 3 autres applications les plus fortes ([100, 150 et 200 ppm]) (Fig. 32).



**Figure 32** : Effets des différentes concentrations en  $K_2Cr_2O_7$  [50, 100, 150 et 200 ppm] sur les quantités en protéines (mg/100 mg de poids sec) des plantules de *Marrubium vulgare* L. Les dosages ont été réalisés au 20<sup>ème</sup> jour depuis la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines et représentent une valeur moyenne de 3 dosages différents  $\pm$  écart-type.

#### IV-1-4-3- Effets sur le contenu protéinique des traitements au cadmium vs chrome

Rapporté à la matière végétale sèche, le contenu protéinique des plantules diminue sous l'effet du stress métallique imposé. La diminution étant minime pour la plus faible application ([50 ppm]), devenant très important lorsque l'application est plus forte ([100, 150 ou 200 ppm]). C'est ce qui se passe avec le stress imposé par le Cd ou bien imposé par le Cr (Fig. 31 et 32).

Proportionnellement, le stress imposé par le Cd a des effets sur le contenu protéinique qui ne diffère pas trop de celui imposé par le Cr, puisque le rapport Cr / Cd est sensiblement égal à 1, notamment pour les 3 premières concentrations ([50, 100 et 150 ppm]). Il augmente légèrement (1,29) pour la concentration de [200 ppm] indiquant à ce niveau, un effet plus conséquent du Cd par rapport au Cr sur le contenu protéinique (**Tab. 9**).

**Tableau 9** : Contenu protéinique des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées (témoins) et des graines traitées par différentes concentrations [50, 100, 150 et 200 ppm] en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> et en K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. Les dosages ont été réalisés au 20<sup>ème</sup> jour depuis la 1<sup>ère</sup> mise à germination et représentent une valeur moyenne de 3 dosages différents ± écart-type.

Contenu protéinique (en mg/100 mg de poids sec)					
	Témoins	[50 ppm]	[100 ppm]	[150 ppm]	[200 ppm]
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	20,64±0,24	18,18±0,48	5,79±0,59	4,86±0,70	4,08±0,38
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>		19,32±1,53	5,57±0,09	5,28±0,64	5,29±1,00
Cr / Cd	1	1,06	0,96	1,08	1,29

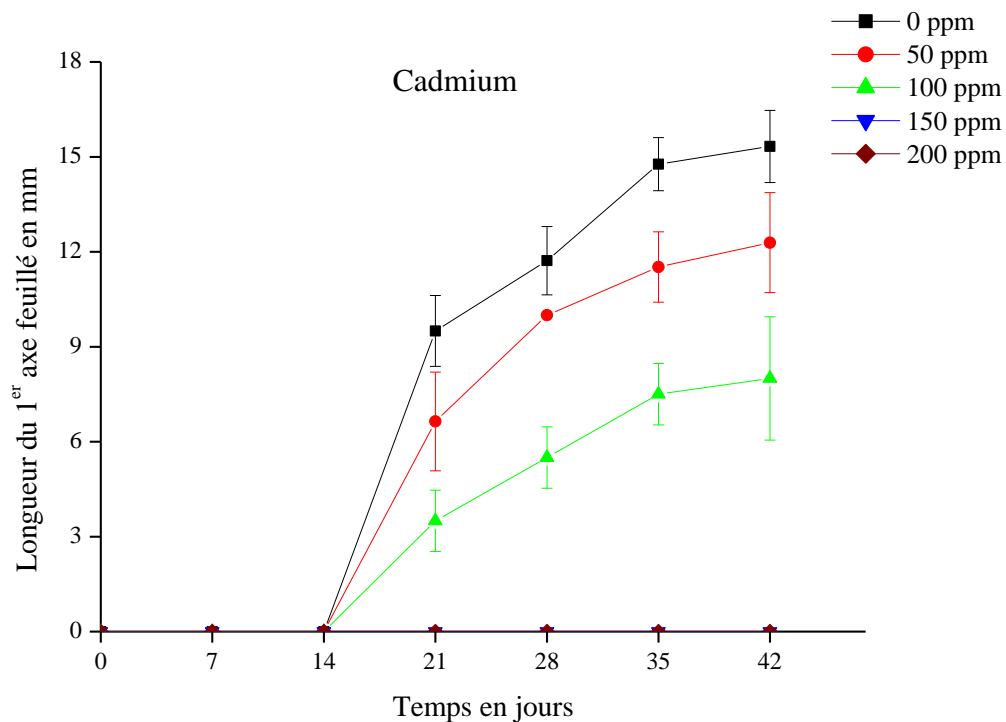
#### IV-1-5- Cinétique de la longueur du 1<sup>er</sup> axe feuillé

Des plantules de *Marrubium vulgare* L. de 10 jours issues de la 1<sup>ère</sup> mise à germination des différents lots de graines (témoins, traités au Cd et traités au Cr) ont été transférées en pots et laissées durant 6 semaines pour développer leur partie aérienne. Tout au long de cette période, des mesures hebdomadaires du 1<sup>er</sup> axe feuillé ont été réalisées.

##### IV-1-5-1- Longueur du 1<sup>er</sup> axe feuillé des traités au Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

Ce 1<sup>er</sup> axe feuillé est composé de deux feuilles opposées. Il commence à émerger suffisamment à partir de la seconde semaine depuis le transfert en pots. Les mesures effectuées d'ailleurs à la 3<sup>ème</sup> semaine au sein des plantules témoins montrent un 1<sup>er</sup> axe feuillé d'une longueur moyenne de 9,50 ± 1,12 mm ; qui évolue à 11,72 ± 1,08 mm au bout de la 4<sup>ème</sup> semaine ; puis à 14,77 ± 0,84 mm au bout de la 5<sup>ème</sup> semaine. Cette évolution marque sensiblement le pas à la 6<sup>ème</sup> semaine, puisque les mesures réalisées font état d'une longueur moyenne de seulement 15,33 ± 1,14 mm (**Fig. 33**). A ce stade, le 1<sup>er</sup> axe feuillé étant suffisamment développé laissant place au second axe feuillé émergeant, qui prend le relais du premier.

En utilisant du Cd à une concentration de [50 ppm], les plantules qui se sont développées montrent un 1<sup>er</sup> axe feuillé de longueur moindre que celui des témoins à tous les niveaux de la réalisation des mesures. Ainsi, la longueur moyenne de cet axe n'est que de  $6,64 \pm 1,56$  mm à la 3<sup>ème</sup> semaine. Sa progression est assez importante entre la 3<sup>ème</sup> et la 4<sup>ème</sup> semaine pour atteindre une longueur moyenne de  $10,0 \pm 0,0$  mm, avant de marquer à son tour le pas à la 5<sup>ème</sup> ( $11,52 \pm 1,11$  mm) et à la 6<sup>ème</sup> ( $12,29 \pm 1,58$  mm) semaine (**Fig. 33**).



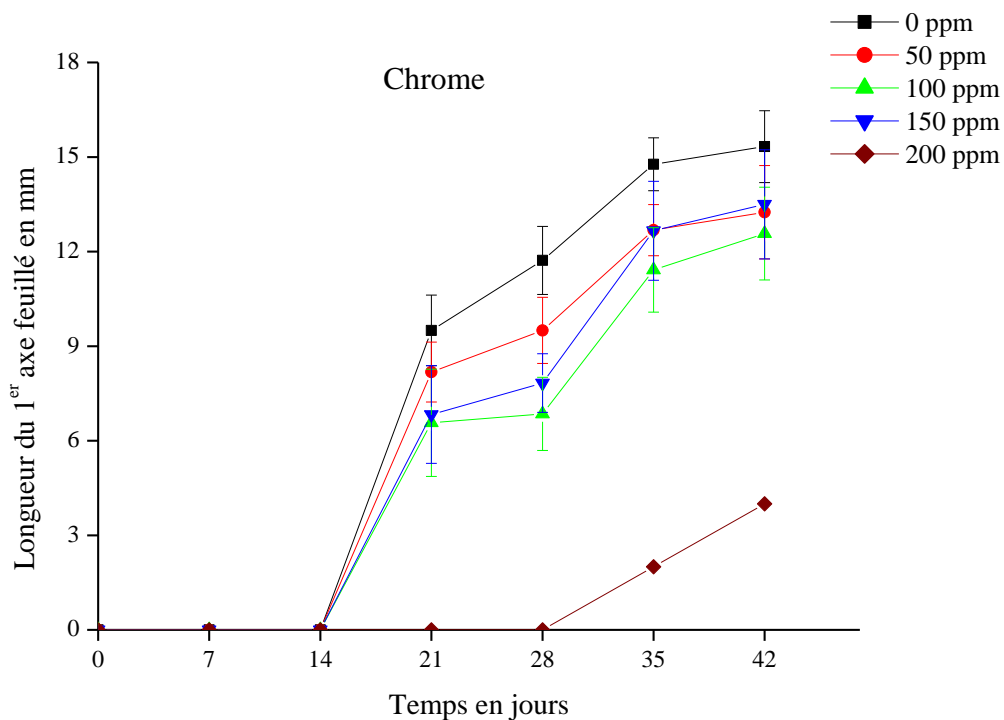
**Figure 33** : Evolution des longueurs du 1<sup>er</sup> axe feuillé des plantules de *Marrubium vulgare* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> [50, 100, 150 et 200 ppm] en fonction du temps. Ces mesures ont été réalisées chaque semaine depuis le transfert des plantules en pots, effectué au 10<sup>ème</sup> jour depuis la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines.

Les niveaux d'évolution de ce 1<sup>er</sup> axe feuillé sont encore moindres lorsque le traitement est de [100 ppm] en Cd. Ainsi, la longueur moyenne mesurée à la 3<sup>ème</sup> semaine n'est que de  $3,50 \pm 0,97$  mm, qui évolue à  $5,50 \pm 0,97$  mm à la 4<sup>ème</sup> semaine, puis à  $7,50 \pm 0,97$  mm à la 5<sup>ème</sup> semaine, avant de marquer le pas ( $8,0 \pm 1,95$  mm) à la 6<sup>ème</sup> semaine (**Fig. 33**).

Il y a lieu de noter, que le transfert des plantules en pots issues des 2 traitements les plus forts [150 et 200 ppm] n'ont pas permis leur développement (**Fig. 33**).

#### IV-1-5-2- Longueur du 1<sup>er</sup> axe feuillé des traités au K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>

Des applications de [50, 100 et 150 ppm] en Cr ne semblent pas entraver substantiellement la croissance du 1<sup>er</sup> axe feuillé, qui évolue au même titre que celui des plantules témoins lorsqu'on considère en même temps les écart-types enregistrés. C'est seulement la concentration de [200 ppm] qui retarde non seulement l'apparition du 1<sup>er</sup> axe feuillé, en plus d'une évolution peu importante les 2 semaines suivantes (**Fig. 34**).



**Figure 34 :** Evolution des longueurs du 1<sup>er</sup> axe feuillé des plantules de *Marrubium vulgare* L. témoins [0 ppm] et traitées par différentes concentrations en en K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> [50, 100, 150 et 200 ppm] en fonction du temps. Ces mesures ont été réalisées chaque semaine depuis le transfert des plantules en pots, effectué au 10<sup>ème</sup> jour depuis la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines.

#### IV-1-5-3- Longueur du 1<sup>er</sup> axe feuillé des traités au cadmium vs chrome

La cinétique des longueurs du 1<sup>er</sup> axe feuillé a été suivie durant 6 semaines depuis le transfert des plantules en pots. Les longueurs enregistrées diffèrent non seulement entre les deux traitements appliqués au préalable aux graines (Cd vs Cr) et également entre les différentes concentrations testées, particulièrement dans le cas du Cd qui se révèle plus inhibant aux concentrations les plus fortes [150 et 200 ppm] vis-à-vis du Cr (**Fig. 33 et 34 ; Tab. 10**).

Ainsi, si la concentration de [50 ppm] en Cr permet aux 1<sup>ers</sup> axes feuillés d'évoluer au même titre que ce qui a été observé chez les témoins, le Cd fait sensiblement de même hormis pour la semaine 3 où un léger retard dans le déclenchement de la croissance est observé. Le rapport Cr / Cd étant légèrement en faveur du Cr que du Cd à la semaine 3, puis tend vers l'équilibre ( $\approx 1$ ) les 3 semaines suivantes (**Tab. 10**).

Ce retard est également perceptible dans le cas d'une application de [100 ppm] en Cd. Ce qui fait porter le rapport Cr / Cd à 1,87. Même si le Cr retarde également l'évolution de ce 1<sup>er</sup> axe feuillé ; il augmente néanmoins dès la 5<sup>ème</sup> semaine, ce qui n'est pas le cas du traitement au Cd, dont les longueurs enregistrées restent en deçà de ce qui a été observé avec la concentration précédente et vis-à-vis du traitement au Cr (**Tab. 10**).

**Tableau 10** : Rapport Cr / Cd et longueurs des 1ers axes feuillés moyens des plantules de *Marrubium vulgare* L. issues des graines non traitées [0 ppm] et des graines traitées par différentes concentrations [50, 100, 150 et 200 ppm] en Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> et en K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> en fonction du temps.

		Longueur du 1 <sup>er</sup> axe feuillé (en mm)			
		Semaine 3	Semaine 4	Semaine 5	Semaine 6
Témoins	[0 ppm]	9,50±1,12	11,72±1,08	14,77±0,84	15,33±1,14
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	[50 ppm]	6,64±1,56	10,00±0,00	11,52±1,11	12,29±1,58
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>		8,18±0,95	9,50±1,05	12,68±0,81	13,25±1,48
Cr / Cd		1,23	0,95	1,10	1,07
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	[100 ppm]	3,50±0,97	5,50±0,97	7,50±0,97	8,00±1,95
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>		6,57±1,70	6,85±1,16	11,42±1,34	12,57±1,47
Cr / Cd		1,87	1,24	1,52	1,57
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	[150 ppm]	-----	-----	-----	-----
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>		6,83±1,55	7,83±0,93	12,66±1,57	13,50±1,73
Cr / Cd		-----	-----	-----	-----
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	[200 ppm]	-----	-----	-----	-----
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>		0	0	2,00±0,00	4,00±0,00
Cr / Cd		-----	-----	-----	-----



## IV-2- Discussion

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

Dans cette étude, l'effet du Cd et du Cr sur la germination des graines de *Marrubium vulgare* L. a été suivi durant une vingtaine de jours, en conditions prédéfinies d'obscurité et de température de 22°C. Cette germination a été comparée aux graines témoins non traitées, qui montrent un pouvoir germinatif remarquable, qui culmine à hauteur de 98,67% pour un temps moyen de germination de 4,15 jours.

Le stress métallique imposé aux concentrations choisies, n'a pas entravé la germination des graines du marrube. Les % cumulés moyens de germination obtenus au final sont équivalents à ceux des témoins, atteignant un taux record de 97% dans le cas du Cd et dans le cas du Cr.

Ce qui semble différer est le temps moyen de germination, qui s'allonge un peu plus que celui des témoins, notamment lorsqu'on évolue avec les concentrations appliquées de façon croissante. Même si entre les 2 traitements, aucune différence n'est observée pour les concentrations de [50, 100 et 150 ppm]. Il s'allonge cependant, un peu plus dans le cas du Cd que dans le cas du Cr lorsque la concentration d'application est de [200 ppm].

La germination ainsi que l'établissement des plantes dans un environnement pollué sont des stades assez vulnérables durant le cycle de vie d'une plante (Vange et al. 2004). Cette vulnérabilité est liée de prime d'abord à l'espèce (Kranter and Colville, 2011). C'est ce qui a été rapporté lorsque le Cd et le Cr sont administrés aux graines de 3 espèces différentes (*Lactuca sativa* var. batavia ; *Beta vulgaris* var. cicla ; *Spinacia oleracea* Hib. 424) aux concentrations de [25, 35 et 50  $\mu\text{M L}^{-1}$ ]. Au-delà de la concentration utilisée, la germination des graines de ces 3 espèces est réduite de 46%, 97% et 8% respectivement pour la bette à carde, la laitue et l'épinard, lorsque on utilise du Cd dans le milieu de germination. Cette réduction est de 29% pour la bette à carde, 6% pour la laitue et 34% pour l'épinard, lorsqu'on utilise du Cr dans le milieu de germination de ces espèces (Bautista et al. 2013).

La germination étant un processus complexe, qui est fortement affecté par la présence des ETM présents notamment en excès. En revanche, des doses modérées n'influencent pas ou que peu la germination. C'est ce que l'on observe avec *Salvia hispanica* L., où la germination n'est que peu touchée lorsque la concentration en Cd utilisée dans le milieu est de 15  $\text{mg L}^{-1}$ . Des concentrations plus élevées de 45 et 60  $\text{mg L}^{-1}$ , provoquent une réduction de la germination, où seulement 42% des graines arrivent à germer (Stefanello et al. 2019).

C'est aussi le cas des graines du haricot, une fois exposées à des concentrations allant de 10 à 1000  $\text{mg L}^{-1}$  de Cd. La germination des graines est affectée à partir de la concentration de 50  $\text{mg L}^{-1}$  (El Rasafi et al. 2016). Pour le blé, traité aux concentrations de 0 à 80  $\text{mg L}^{-1}$  en Cd, la germination décline dès la concentration de 20  $\text{mg L}^{-1}$  (Ahmad et al. 2012).

A l'instar du Cd, le Cr appliqué aux concentrations de 0,5 ; 2,5 ; 5 ; 10 et 25 mg kg<sup>-1</sup> n'a pas d'effet significatif sur la germination des graines d'*Hibiscus esculentus* L. Cependant, le % de germination diminue de 42,22% et 48,88% lorsqu'on porte les concentrations respectivement à 50 et 100 mg kg<sup>-1</sup> (**Amin et al. 2013**). Ce cas de figure a été observé chez plusieurs espèces dont on pourra citer : *Daucus carrota*, *Raphanus sativus*, *Beta vulgaris*, *Lycopersicum esculentum*, *Solanum melongena*, *Vigna radiata*, *Vigna angularis*, *Medicago sativa*, *Lathyrus odoratus* et *Triticum aestivum* (**Peralta et al. 2001 ; Zayed and Terry, 2003 ; Jun et al. 2009**).

Considérant le temps moyen de germination et par rapport au témoin, il a été observé que le Cd prolongeait ce temps de 1,5 ; 4,13 ; 7,23 et 16,08% selon respectivement les différents cultivars du blé considérés dans l'étude menée par **Ahmad et al. (2012)**. Il reste que ce prolongement du temps moyen de germination reste valable pour uniquement la concentration en Cd la plus forte qui a été utilisée dans leurs expérimentations (80 mg L<sup>-1</sup>). Toutes les autres concentrations testées (5, 20 et 50 mg L<sup>-1</sup>) ne changent pas significativement ce temps lorsqu'on le compare à celui des témoins (**Ahmad et al. 2012**).

C'est ce qui revient dans l'étude réalisée sur les effets du Cr sur la germination et les premiers stades de croissance du melon (*Cucumis melo* L.). Le temps moyen de germination surpassait celui du témoin de 1,22 à 2,99 ; et ce lorsqu'on évoluait d'une concentration la plus faible de 2,5 mg L<sup>-1</sup> à la concentration la plus forte de 300 mg L<sup>-1</sup> (**Akinci and Akinci, 2010**).

En clair, le processus germinatif est influencé par les éléments traces métalliques, qui semble dépendre de la concentration utilisée, du métal lui-même et de l'espèce de plante considérée (**Kranner and Colville, 2011 ; El Rasafi et al. 2016 ; Stefanello et al. 2019**). L'effet toxique des ETM peut aussi être influencé par la capacité d'un métal à interagir avec le tégument et les tissus embryonnaires d'une graine, comme il dépend des propriétés physico-chimiques de ces éléments. Différentes espèces de plantes montrent des téguments de types variés, de point de vue structure et anatomie. Ainsi, parmi les espèces, la même concentration en un élément peut induire des effets toxiques assez variés (**Mahmood et al. 2007 ; Ko et al. 2012 ; Stefanello et al. 2019**).

En général, les ETM affectent négativement la germination et compromettent de ce fait le développement ultérieur des plantes, en raison principalement de l'absence de mécanismes de défense à ce stade précis (**Yang et al. 2010**). Une fois que la solution traverse le tégument, une graine ne peut compter que sur ses propres réserves pour fournir les métabolites nécessaires à leur germination. Justement, l'un des principaux effets de la toxicité du Cd ou bien du Cr, peut être observé au cours de ce processus, où l'activité des  $\beta$ -amylases est réduite, ce qui nuit à la respiration et inhibe l'émergence de la radicule et la croissance de l'axe embryonnaire (**Mihoub et al. 2005 ; He et al. 2008**).

Le temps moyen de germination augmente à mesure que l'on augmente la concentration de l'ETM appliqué aux graines. Ceci serait lié à une diminution des activités enzymatiques en lien avec la croissance de l'embryon et la protrusion de la radicule. En effet, le Cd et le Cr perturbent le développement, la différenciation cellulaire et la croissance en modifiant l'activité enzymatique de la peroxydase (Djebali et al. 2002 ; Stefanello et al. 2019). Un retard dans la germination se produit en raison du rôle protecteur exercé par le tégument, qui peut bloquer l'entrée de l'élément toxique et l'empêcher d'atteindre l'embryon (Sun and Luo, 2014 ; Stefanello et al. 2019).

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

L'allongement des racines et des hypocotyles ont été mesurés au bout du 20<sup>ème</sup> jour après la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines du marrube. Chez les témoins, les racines atteignent au final une longueur moyenne de 53 mm et les hypocotylés une longueur moyenne de 24 mm.

Le traitement des graines par du Cd influence fortement l'allongement racinaire, puisque c'est à peine si la concentration de [50 ppm] permet d'obtenir au 20<sup>ème</sup> jour des longueurs racinaires moyennes de 15 mm. C'est ce que permet également le Cr, mais lorsqu'il est utilisé à la concentration de [100 ppm]. La concentration la plus faible en Cr testée [50 ppm], assure aux racines une longueur moyenne de 25 mm, moitié moins importante que celle des témoins. Au-delà de la concentration de [50 ppm] en Cd et au-delà de la concentration de [100 ppm] en Cr, aucune évolution notable racinaire n'est observée. Au contraire, les racines mesurées à 2 mm brunissent sensiblement et celles qui arrivent à évoluer un peu paraissent assez frêles et minces.

Toutes ces constatations observées pour les parties racinaires se reproduisent relativement avec l'allongement des axes hypocotylés, qui sont fortement réduits à mesure que l'on augmente la concentration du Cd ou bien du Cr. Aussi, cette réduction est de loin plus accentuée avec l'utilisation du Cd que du Cr.

Nos résultats des mesures biométriques sont concordants avec ceux rapportés par plusieurs auteurs, qui ont utilisés le Cd dans le milieu de germination des graines de plusieurs espèces dont *Sorghum bicolor* (Kuriakose and Prasad, 2008), l'orge (Kalai et al. 2016), le riz (Rizwan et al. 2016) et *Vigna radiata* (Anwar et al. 2021).

Ainsi, une évaluation des effets de différentes concentrations en Cd [0,5 ; 1 ; 1,5 et 2 mM] sur *Brassica juncea* montrent que plus on augmente la concentration du métal, plus l'ensemble des paramètres considérés dans l'étude diminuent. Il s'agit des longueurs des racines, des parties aériennes, de la taille totale des plantules, du poids sec et frais de ces plantules, du pourcentage de germination et de la phytotoxicité (Alfiya and Dheera, 2015).

De son côté, **Ahmad et al. (2016)** trouvent que l'utilisation du Cd à 200  $\mu\text{M}$  induit une diminution significative des longueurs racinaires et aériennes de *Cicer arietinum*.

En terme chiffré, il a été rapporté que le Cd utilisé à 11,2  $\text{mg L}^{-1}$  lors de la germination des graines de *Crambe abyssinica*, fait diminuer la longueur racinaire de 48%, la partie aérienne de 34% et la masse fraîche de 13% (**Hu et al. 2015**).

Cela reste valable pour *Salvia hispanica* L., où l'utilisation du Cd dans le milieu de germination, réduit les longueurs des parties racinaires et aériennes des plantules qui en sont issues, au bout du 7<sup>ème</sup> jour après la 1<sup>ère</sup> mise à germination. Relativement, la partie aérienne diminue de 2,38 cm (témoin) à 1,31 cm ; pendant que la partie racinaire diminue de 4,93 cm (témoin) à 1,79 cm lorsqu'on applique la concentration la plus forte en Cd (60  $\text{mg L}^{-1}$ ) (**Stefanello et al. 2019**). C'est ce que l'on constate aussi chez *Eruca sativa*, où la longueur racinaire diminue de 28%, tandis que la longueur de la partie aérienne diminue de 44% pour une application en Cd de 50  $\text{mg L}^{-1}$  (**Al-Qurainy, 2010**).

Tenant compte de l'espèce considérée, si la longueur racinaire de *Brachiaria brizantha* diminue de 2,5 cm, celle relative à *Brachiaria decumbens* ne diminue que de 1 cm lorsqu'on expose les graines de ces 2 espèces à une concentration de 180  $\text{mg L}^{-1}$  en Cd (**Borges et al. 2016**). Aussi, des concentrations en Cd de (1,10 ; 1,6 et 2  $\text{mg L}^{-1}$ ) qui n'ont pas entravé la germination des graines de *Dianthus barbatus* et *Dianthus chinensis*, ont en revanche négativement influencés la croissance des plantules qui en sont issues, touchant spécialement les racines (**Grigoraş and Stratu, 2015 In Stefanello et al. 2019**).

La toxicité du Cr se manifeste autant que le Cd, sur les longueurs des racines et des hypocotyles des plantes dont les graines ont été ainsi traitées. En effet, des analyses menées sur *Cucumis melo* L., montrent que le Cr réduit, par rapport au témoin, l'élongation de la racine de 14,7 à 58,8% lorsque les solutions de germinations contiennent des concentrations en Cr de 2,5 à 70  $\text{mg L}^{-1}$ . Ces mêmes concentrations induisent une diminution de l'hypocotyle de 11,4 à 52,7% par rapport au témoin (**Akinci and Akinci, 2010**).

La concentration utilisée est pour beaucoup dans la réduction de l'allongement racinaire (**Datta et al. 2011**). Ainsi, le Cr utilisé à faible concentration (0,25  $\text{mg L}^{-1}$ ) favorise l'allongement, par contre lorsqu'il est utilisé à une concentration dix fois plus élevée, la tendance est pour la réduction de cet allongement chez *Pistia stratiotes* (**Kakkalameleli et al. 2021**). C'est ce qui a été décrit pour les parties racinaires de *Camellia sinensis*, avec également un taux de croissance de la partie aérienne assez faible, une fois exposés au Cr (**Tang et al. 2012**).

**Mondal et al. (2013)** stipulent qu'une réduction de la croissance racinaire est directement liée aux effets de l'élément métallique sur les enzymes hydrolytiques, qui jouent un rôle fondamental dans le transport des nutriments vers la radicule et l'axe caulinaire en formation.

Plusieurs auteurs notent aussi que la diminution de la croissance de la partie aérienne est due à l'inhibition directe de l'élongation cellulaire ou de la division, retardant de ce fait la croissance racinaire et réduisant le transport des nutriments et de l'eau (**Chugh and Sawhney, 1999 ; Bansal et al. 2002 ; Barbosa et al. 2007 ; Lee et al. 2010 ; Mondal et al. 2013 ; Tran and Popova, 2013 ; Stefanello et al. 2019**).

Il y a lieu de noter, que des expositions plus longues aux ETM conduisent au brunissement des racines, devenant mucilagineuses et décomposées, ce qui entraîne finalement une réduction de la croissance de cette partie des plantes, s'ensuit la mort (**Kalai et al. 2014**).

Le Cd s'est révélé dans notre étude menée sur le marrube plus toxique que le Cr, notamment sur l'allongement des racines et des axes hypocotylés. Les plantules mesurées dans leur totalité au 20<sup>ème</sup> jour sont 1,5 fois plus longues chez les traités au Cr que chez les traités au Cd avec la concentration de [50 ppm]. Ce ratio est de 2 pour la concentration de [100 ppm] et passe à 3 pour les concentrations de [150 et 200 ppm], en faveur du Cr.

Le Cr étant préférentiellement accumulé au niveau racinaire et serait peu enclin à passer dans les parties aériennes. Cela en raison probablement de son immobilisation dans les vacuoles des cellules racinaires, ce qui le rend moins toxique que les effets des autres éléments traces métalliques, comme le Cd. n'empêche que des concentrations plutôt élevées se répercutent négativement sur l'ensemble des paramètres qui assurent une croissance convenable des racines et des parties aériennes (**Shanker et al. 2005 ; Revathy and Shanker, 2023**).

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

Nous avons examiné le taux de protéines totales des plantules de *Marrubium vulgare* L. au bout du 20<sup>ème</sup> jour après la 1<sup>ère</sup> mise à germination des graines témoins, traitées par le Cd et traitées par le Cr. En exprimant nos résultats en fonction du poids sec, les deux traitements avec les éléments traces métalliques testés, induisent une diminution des protéines totales par comparaison au témoin. La diminution est minime pour le traitement de [50 ppm], qu'il soit du Cd ou du Cr. Les autres concentrations testées amplifient la diminution du contenu protéinique dosé, puisque le % d'inhibition dépasse les 72%. Autrement, concentration par concentration, le Cd induit les mêmes effets sur le taux des protéines solubles que le Cr.

Des travaux sur les effets du Cd sur certains paramètres physiologiques et biochimiques menés sur *Hordeum vulgare* L., ont montré que la toxicité du métal utilisé entraînait une diminution significative de la teneur en protéines. En effet, des concentrations de 10, 20 et 30 mM ont respectivement réduit à 4,95 ; 5,17 et 3,51 mg g<sup>-1</sup> de poids frais le taux de protéines racinaires par rapport aux protéines dosées dans les racines des témoins (13,36 mg g<sup>-1</sup> de poids frais) (**Gubrelay et al. 2013**).

De même, dans les parties aériennes, le contenu protéinique estimé est de 8,03 ; 5,56 et 3,50 mg g<sup>-1</sup> de poids frais, respectivement aux concentrations de 10, 20 et 30 mM de Cd, par comparaison aux protéines des parties aériennes des témoins (12,05 mg g<sup>-1</sup> de poids frais). Dans le cas des protéines foliaires, les dosages réalisés montrent des teneurs de 10,1 ; 8,16 et 5,97 mg g<sup>-1</sup> de poids frais, respectivement aux concentrations de 10, 20 et 30 mM, par rapport aux protéines des feuilles des témoins, qui comptent une teneur de 10,76 mg g<sup>-1</sup> (Gubrelay et al. 2013).

Il en est de même dans le cas d'un traitement au Cr, puisque des travaux réalisés sur des plantules du *Vigna sinensis* L., montrent certes une élévation de la teneur en protéines, mais uniquement lorsqu'on utilise des concentrations assez faibles de [2 à 10 ppm]. A partir d'une concentration de [25 ppm], le contenu protéinique commence à diminuer (Nath et al. 2008).

Dans une autre contribution réalisée sur certains cultivars de *Triticum aestivum* L., il a été observé une diminution des teneurs en protéines qui s'accroît avec l'élévation de la concentration en Cr (Datta et al. 2011). Selon ces derniers auteurs, la diminution des protéines est attribuée au manque de l'azote, indispensable à la synthèse des acides aminés, éléments constitutifs des protéines.

Les protéines sont sujettes à de nombreuses modifications, allant de l'oxydation à la libération de chaînes peptidiques, ce qui entraîne une diminution de leur taux. C'est ce que d'ailleurs préconise Rauser (1995), qui attribue la diminution des protéines en présence du Cd, à la formation de complexes de liaison du Cd<sup>2+</sup> d'avec trois familles de peptides, lesquels limitent la disponibilité des peptides libres et inhibe ainsi la synthèse des protéines (Gubrelay et al. 2013).

Ayaz & Kadioğlu (1997) qui ont travaillé sur les protéines solubles des graines en germination de *Lens esculenta* L., sous effets de plusieurs types d'ETM, soulignent que les raisons de la diminution sont attribuées à l'accroissement de l'activité des protéases qui hydrolysent les protéines solubles, ainsi qu'aux inhibitions de l'activité de certaines enzymes portant des groupements thiols.

#### IV-2-4- Développement du 1<sup>er</sup> axe feuillé des plantules de *Marrubium vulgare* L.

En transférant nos plantules en pots, la levée du stress métallique a engagé la levée des parties aériennes. Ce qui se développe en premier lieu, le 1<sup>er</sup> axe feuillé dont la longueur a été mesurée chaque semaine pendant 6 semaines.

Ce 1<sup>er</sup> axe feuillé commence à émerger chez les témoins entre la 2<sup>nd</sup>e et la 3<sup>ème</sup> semaine après le transfert en pot, évoluant progressivement en longueur pour finalement atteindre au bout de la 6<sup>ème</sup> semaine une longueur moyenne de 15,33 ± 1,14 mm.



Le traitement au préalable des graines du *Marrubium vulgare* L. par le Cd influence l'apparition puis l'allongement de ce 1<sup>er</sup> axe feuillé au cours du temps, particulièrement pour la concentration de [100 ppm]. Les concentrations les plus fortes de [150 et 200 ppm] n'ont permis aucune levée de ce 1<sup>er</sup> axe feuillé, entraînant la perte des plantules transférées en pots. La seule concentration qui a permis une évolution assez notable de ce 1<sup>er</sup> axe feuillé est celle de [50 ppm] permettant à cet axe de progresser pour atteindre au final une longueur moyenne certes appréciable, mais moindre que celle du témoin d'environ 20 %.

Les plantes répondent différemment lorsqu'elles sont exposées à des concentrations variables en Cd. Les anomalies anatomiques observées dépendent des espèces végétales, de la durée d'exposition, de la quantité absorbée, de la séquestration et de la localisation dans différentes parties (Shah et al. 2019). Le Cd est mobile via le phloème, on le retrouve dans n'importe quelle partie des plantes, entraînant une réduction de la biomasse et du rendement, une chlorose et une chute des feuilles (Gallego et al. 2012).

Une exposition au Cd ( $60 \mu\text{M L}^{-1}$ ) provoque des altérations anatomiques considérables dans les différents organes de *Ceratopteris pteridoides*. Ces altérations comprennent une étroitesse du xylème et une désorganisation des faisceaux vasculaires dans les racines, tiges et feuilles. Les stomates foliaires ferment et les chloroplastes se désorganisent (Bora and Sarma, 2021). Une altération importante touchant également le xylème et le phloème a été observée chez *Trigonella foenum* sous stress induit par une concentration de  $50 \mu\text{g g}^{-1}$  en Cd (Ahmad et al. 2005). Le développement du parenchyme palissadique foliaire de *Populus deltoides* décline avec un traitement de  $8,14 \text{ mg Kg}^{-1}$  en Cd (Nicolíć et al. 2017), ainsi que chez *Avicennia schaueriana* L. pour un traitement de  $64 \text{ mg L}^{-1}$  en Cd (Mizushima et al. 2019). En plus du parenchyme palissadique et spongieux, l'épaisseur de l'épiderme des feuilles, qu'il soit du côté supérieur ou inférieur, diminue aussi bien chez *Populus deltoides* L. (Nicolíć et al. 2017), l'*Eucalyptus urophylla* L. (da Silva Cunha et al. 2020), *Cicer arietinum* L. (Liza et al. 2020) et *Salvia sclarea* L. (Dobrikova et al. 2021).

En clair, le Cd impacte négativement la taille de l'épiderme et du parenchyme foliaire, perturbe l'ultrastructure des chloroplastes et désorganise le système vasculaire conducteur des sèves (Zulfiqar et al. 2022).

Le Cr au contraire du Cd, a permis au 1<sup>er</sup> axe feuillé d'évoluer pour l'ensemble des concentrations testées au préalable sur les graines de *Marrubium vulgare* L. Si la concentration la plus forte de [200 ppm] n'a assuré qu'une faible évolution de cet axe, les 3 autres concentrations testées [50, 100 et 150 ppm]) ont permis l'émergence et une évolution assez conséquente du 1<sup>er</sup> axe feuillé. En effet, tenant compte des écarts-types enregistrés, l'évolution de ce 1<sup>er</sup> axe feuillé se confond en tous points avec ce qui a été enregistré comme évolution de cet axe chez les témoins.

Dans une étude réalisée sur deux cultivars de *Gossypium hirsutum* L., le stress induit par différentes concentrations en Cr affecte certes certains paramètres mesurés des feuilles, mais uniquement sous influence de concentrations de 50 et 100  $\mu\text{M}$  par rapport à la concentration de 10  $\mu\text{M}$ . En effet, seuls les niveaux élevés en Cr, qui ont nettement affecté la longueur et la largeur des feuilles chez les deux types de cultivars. Aussi, une plus grande diminution est observée pour ce qui est de la longueur par rapport à la largeur des feuilles (Saud et al. 2022). De tels effets du Cr ont été également rapportés dans le cas de *Brassica napus* (Gill et al. 2015), *Brassica chinensis* (Ma et al. 2017) et *Origanum vulgare* (Levizou et al. 2019).

Ce qui est généralement admis est que le Cr en excès dans les tissus provoque des effets de toxicité sur pas mal de paramètres physiologiques, morphologiques et biochimiques. Cette toxicité est attribuée à un système complexe d'interactions métal – processus génétiques – voies de signalisation – métabolisme et macromolécules. La toxicité se manifeste par une réduction de la croissance, des modifications touchant l'ultrastructure des membranes cellulaires et du chloroplaste, des chloroses au niveau foliaire, un endommagement des racines, une réduction des teneurs en pigments, une perturbation des relations hydriques et de la nutrition minérale ainsi qu'une altération des activités enzymatiques et un rehaussement des formes réactives de l'oxygène (Shahid et al. 2017).

Sinon à faible concentration ou lorsque le stress est levé, comme c'est le cas dans notre travail sur *Marrubium vulgare* L., les possibilités de croissance de l'axe feuillé au même titre que ce qui a été observé chez les témoins, indiquent que les plantes peuvent surmonter ce stress. En effet, on a constaté qu'après un retard qui a duré au moins 4 semaines, les plantes issues des germinations stressées par une concentration en Cr de [200 ppm] sont capables d'émettre un 1<sup>er</sup> axe feuillé en passe de se développer (Fig. 35).



**Figure 35** : Constat de développement du 1<sup>er</sup> axe feuillé au bout de la 6<sup>ème</sup> semaine après transfert en pot des plantules de *Marrubium vulgare* L. dont les graines ont été préalablement traitées par une concentration en  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  de [200 ppm].



La mobilité du Cr dans les racines des plantes est faible par rapport aux autres métaux lourds (**Sharma et al. 2020**). Ainsi, la concentration du Cr dans les racines peut être 100 fois supérieure à celle des pousses (**Gupta and Sinha, 2006**). Le Cr peut être accumulé et séquestré dans les vacuoles des cellules racinaires en tant que stratégie protectrice, ce qui explique une certaine tolérance vis-à-vis de la toxicité du Cr chez les espèces végétales (**Srivastava et al. 2021**).

La translocation du Cr depuis les racines vers les parties aériennes est assez limitée et dépend fortement de la forme chimique du Cr au niveau tissulaire (**Shahid et al. 2017**). Le Cr hexavalent est transformé en Cr trivalent, qui a plus tendance à adhérer aux parois cellulaires, empêchant de ce fait sa translocation vers d'autres tissus (**Kabata-Pendias and Szteke, 2015**).

# **CONCLUSION**

## V- Conclusion

Une espèce comme *Marrubium vulgare* L., connue depuis des lustres pour ses vertus thérapeutiques, peut s'avérer utile pour la restauration des sols en milieux pollués par des éléments traces métalliques. Avant d'envisager une telle perspective de dépollution des sols, il est intéressant à notre échelle d'entrevoir au préalable une étude sur les capacités germinatives exprimées par les graines de cette plante, sous influence du cadmium et du chrome, et d'en voir ensuite les conséquences sur les plantules qui en sont issues, notamment sur les aspects concernant la croissance des parties souterraines et aériennes. À cet effet, différentes concentrations croissantes ([50, 100, 150 et 200 ppm]) en cadmium apporté sous forme de nitrate de cadmium [Cd (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] et le chrome apporté sous forme de dichromate de potassium [K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>], ont été testées sur cette espèce.

Ces expérimentations ont donné lieu à des résultats concordants avec ce qui a été rapporté par plusieurs travaux dédiés à cet effet. Les concentrations utilisées, qu'elles soient pour le Cd ou le Cr, n'ont pas entravé la germination de nos graines, et ce, par rapport à ce que nous avons défini au départ comme critère de germination à adopter, 2 mm au moins de longueur racinaire pour considérer la germination accomplie.

Au-delà de la présence du stress métallique, les graines du *Marrubium vulgare* L. entrevoient une capacité germinative exceptionnelle (97%), après un temps de latence de 2 à 3 jours. Seulement, le temps moyen de germination s'allonge en augmentant dans le sens croissant la concentration usitée, avec à la clé un allongement un peu plus dans le cas du Cd que dans le cas du Cr lorsqu'on applique la concentration la plus forte de [200 ppm].

A priori, notre espèce n'étant pas donc vulnérable à la présence d'un stress métallique lors de la germination, en revanche la vulnérabilité tend à s'installer juste après ce processus. En effet, il a été remarqué, dès la percée de la radicule, un brunissement du système racinaire qui s'installe les jours suivants la germination. Ce brunissement, rendant les racines assez frêles, ne permet aucun allongement, sinon que peu au cours du temps. Ce constat a été fait lorsqu'on a utilisé le Cd à une concentration au-delà de [50 ppm] et le Cr à une concentration au-delà de [100 ppm].

Ce constat s'applique également dans le cas de l'allongement des axes hypocotylés, qui sont fortement réduits à mesure que l'on augmente la concentration de l'élément métallique. Aussi, cette réduction est de loin plus accentuée avec l'utilisation du Cd que du Cr. En d'autres termes, lorsqu'on considère les plantules issues des germinations stressées, leur longueur moyenne est de 1,5 fois plus longue chez les traitées au Cr que chez les traitées au Cd pour la concentration de [50 ppm]. On passe au ratio de 2 lorsqu'on porte la concentration du traitement à [100 ppm] et au ratio de 3 lorsqu'on porte la concentration à [150 et 200 ppm], toujours en faveur de l'élément Cr par rapport à l'élément Cd.

Ces mesures qui traduisent une sensibilité de la croissance, touchée par les effets de ces éléments métalliques, ont été vérifiées par un dosage du contenu protéinique de ces plantes. Exprimé en fonction de la matière sèche, ce contenu n'a pas trop varié de celui des témoins, lorsqu'on applique la concentration de [50 ppm] en Cd ou bien en Cr. Les diminutions sont plutôt constatées pour des applications plus grandes, où l'on enregistre un pourcentage de diminution du contenu protéinique atteignant 72% et plus.

En levant le stress métallique qui a été au préalable imposé aux graines, par transfert rapide en pot des plantules qui en sont issues, au bout du 10<sup>ème</sup> jour après la 1<sup>ère</sup> mise à germination. Ce transfert semble donner des résultats très satisfaisants, inattendus par rapport à ceux obtenus sur un milieu pollué. En effet, le développement du 1<sup>er</sup> axe feuillé au cours du temps a été engagé avec succès, beaucoup plus pour le cas des décontaminés du Cr, que dans le cas des décontaminés du Cd.

Certes, ce 1<sup>er</sup> axe feuillé a pris un retard pour émerger par rapport au 1<sup>er</sup> axe feuillé des témoins, suite aux conséquences d'un prétraitement avec l'élément métallique imposé aux graines, mais les potentialités de se rattraper sont évidentes, particulièrement pour ce qui est du Cr par rapport au Cd.

Ceci ne peut que présager des potentialités certaines que pourrait présenter *Marrubium vulgare* L. en situation de stress métallique. Cette affirmation est néanmoins subordonnée à un travail complémentaire qu'on pourrait envisager en perspective portant sur :

- Doser la présence de ces deux éléments métallique, Cd et Cr, au niveau racinaire et dans les parties aériennes ;
- Suivre les activités enzymatiques et autres molécules impliquées dans ce contexte de stress métallique ;
- Engager une expérimentation *in situ* de l'espèce en sites contaminés, afin de se rapprocher davantage des conditions naturelles et d'évaluer de plus près les potentialités de dépollution et de réhabilitation des sites contaminés par les métaux lourds.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Aćimović 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)
- Adriano D.C. **2001**. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. *2<sup>nd</sup> Edition, Springer, New York, 867 pp.* DOI: [10.1007/978-0-387-21510-5](https://doi.org/10.1007/978-0-387-21510-5)
- Ahmad S.H., Reshi Z., Ahmad J., Iqbal M. **2005**. Morpho-anatomical responses of *Trigonella foenum graecum* Linn. to induced cadmium and lead stress. *Journal of Plant Biology* 48:64-84. DOI: [10.1007/BF03030566](https://doi.org/10.1007/BF03030566)
- Ahmad I., Akhtar M.J., Zahir Z.A., Jamil A. **2012**. Effect of cadmium on seed germination and seedling growth of four wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Pakistan Journal of Botany* 44(5):1569-1574. <https://www.researchgate.net/publication/236016436>
- Ahmad P., Abdel Latef A.A., Abd Allah E.F., Hashem A., Sarwat M., Anjum N.A., Gucel S. **2016**. Calcium and potassium supplementation enhanced growth, osmolyte secondary metabolite production, and enzymatic antioxidant machinery in cadmium-exposed chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Frontiers in Plant Science* 27(7):1-12. DOI: [10.3389/fpls.2016.00513](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00513)
- Ahvazi M., Balali G.R., Jamzad Z., Saeidi H. **2018**. A taxonomic, morphological and pharmacological review of *Marrubium vulgare* L., an old medicinal plant in Iran. *Journal of Medicinal Plants* 17(65):7-24. <http://jmp.ir/article-1-2082-en.html>
- Akinci I.E., Akinci S. **2010**. Effect of chromium toxicity on germination and early seedling growth in melon (*Cucumis melo* L.). *African Journal of Biotechnology* 9(29):4589-4594. ISSN: 1684-5315 © 2010 Academic Journals
- Al-Qurainy F. **2010**. Application of inter simple sequence repeat (ISSR Marker) to detect genotoxic effect of heavy metals on *Eruca sativa* (L.). *African Journal of Biotechnology* 9(4):467-474. DOI: [10.4314/AJB.V9I4](https://doi.org/10.4314/AJB.V9I4). Corpus ID: 85799496
- Alfiya B., Dheera S. **2015**. Phytotoxic effects of cadmium on seed germination and seedling growth of (*Brassica juncea* L. Czern Coss) cv. *International Research Journal of Biological Sciences* 4(5):80-86. <http://www.isca.me/IJBS/archive/v4/i5/15.ISCA-IRJBS-2015-047.pdf>

- Amin H., Arain B.A., Amin F., Surhio M.A. **2013**. Phytotoxicity of chromium on germination, growth and biochemical of *Hibiscus esculentus* L. *American Journal of Plant Sciences* 4(12):9 pages. DOI: [10.4236/ajps.2013.412302](https://doi.org/10.4236/ajps.2013.412302)
- Amin H., Arain B.A., Abbasi M.S., Amin F., Jahangir T.M., Soomro N.A. **2019**. Evaluation of chromium phyto-toxicity, phyto-tolerance, and phyto-accumulation using biofuel plants for effective phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation* 21(4):352-363. DOI: [10.1080/15226514.2018.1524837](https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1524837)
- Amri B., Martino E., Vitulo F., Corana F., Kaâb L.B., Rui M., Rossi D., Mori M., Rossi S., Collina S. **2017**. *Marrubium vulgare* L. leave extract: phytochemical composition, antioxidant and wound healing properties. *Molecules* 22:1851-1869. DOI: [10.3390/molecules22111851](https://doi.org/10.3390/molecules22111851).
- Andresen E., Küpper H. **2013**. Cadmium toxicity in plants. *Metal Ions in Life Sciences* 11:395-413. DOI: [10.1007/978-94-007-5179-8\\_13](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5179-8_13)
- Anwar S., Shafiq F., Nisa Z., Usman U., Ashraf M.Y., Ali N. **2021**. Effect of cadmium stress on seed germination, plant growth and hydrolyzing enzymes activities in mungbean seedlings. *Journal of Seed Science* 43:e202143042, 10 pages. DOI: [10.1590/2317-1545v43256006](https://doi.org/10.1590/2317-1545v43256006)
- Assunção A.G., Schat H., Aarts M.G. **2003**. *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist* 159(2):351-360. DOI: [10.1046/j.1469-8137.2003.00820.x](https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00820.x)
- Ayaz F.A., Kadioğlu A. **1997**. Effects of heavy metals (Zn, Cd, Cu, Hg) on the soluble protein bands of germinating *Lens esculenta* L. seeds. *Turkish Journal of Botany* 21(2):85-88. <http://journals.tubitak.gov.tr/botany/vol21/iss2/3/>
- Baker A.J., Walker P.L. **1989**. Physiological responses of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity. *Chemical Speciation & Bioavailability* 1(1):7-17. DOI: [10.1080/09542299.1989.11083102](https://doi.org/10.1080/09542299.1989.11083102)
- Baker A.J., Morel J.L., Schwartz C. **1997**. Des plantes pour dépolluer les friches industrielles. *Biofutur* 1997(169):30-33. DOI: [10.1016/S0294-3506\(97\)84157-9](https://doi.org/10.1016/S0294-3506(97)84157-9)

- Baker A.J., McGrath S.P., Reeves D.R., Smith J.A. **2000**. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. *In: Terry N., Banuelos G. (Eds.), Phytoremediation of contaminated soils and water. Lewis Publishers, London, 85-107.* <http://www.researchgate.net/publication/284669331>
- Bansal P., Sharma P., Dhindsa K. **2001**. Impact of Pb<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> on activities of hydrolytic enzymes in germinating pea seeds. *Ann. Agri-Bio. Res. 6:113-122.* <https://www.researchgate.net/publication/284404196>
- Bansal P., Sharma P., Goyal V. **2002**. Impact of lead and cadmium on enzyme of citric acid cycle in germinating pea seeds. *Biologia Plantarum 45:125-127.* DOI: [10.1023/A:1015173112842](https://doi.org/10.1023/A:1015173112842)
- Barbosa R.M., de Almeida A.F., Mielke M.S., Loguercio L.L., Mangabeira P.A., Gomes F.P. **2007**. A physiological analysis of *Genipa Americana* L.: a potential phytoremediator tree for chromium polluted watersheds. *Environmental and Experimental Botany 61(3):264-271.* DOI: [10.1016/j.envexpbot.2007.06.001](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.06.001)
- Barceló J., Poschenrieder C., Gunsé B. **1986**. Water relations of chromium VI. treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender) under both normal and water stress conditions. *Journal of Experimental Botany 37(175):178-187.* <https://www.jstor.org/stable/23691467>
- Barceló J., Vásquez M.D., Poschenrieder C. **1988**. Cadmium-induced structural and ultrastructural changes in the vascular system of bush bean stems. *Plant Biology 101(3):254-261.* DOI: [10.1111/j.1438-8677.1988.tb00041.x](https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1988.tb00041.x)
- Baryla A., Carrier P., Franck F., Coulomb C., Sahut C., Havaux M. **2001**. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta 212(5-6):696-709.* DOI: [10.1007/s004250000439](https://doi.org/10.1007/s004250000439)
- 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)



- Bautista O.V., Fischer G., Cárdenas J.F. **2013**. Cadmium and chromium effects on seed germination and root elongation in lettuce, spinach and Swiss chard. *Agronomia Colombiana* 31(1):48-57. <http://www.researchgate.net/publication/256459382>
- Benavides M.P., Gallego S.M., Tomaro M.L. **2005**. Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(1):21-34. DOI: [10.1590/S1677-0420200500010003](https://doi.org/10.1590/S1677-0420200500010003)
- Bewley J.D. **1997**. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell* 9(7):1055-1066. DOI: [10.1105/tpc.9.7.1055](https://doi.org/10.1105/tpc.9.7.1055)
- Bora M.S., Sarma K.P. **2021**. Anatomical and ultrastructural alterations in *Ceratopteris pteridoides* under cadmium stress: a mechanism of cadmium tolerance. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 218:112285. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2021.112285](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112285)
- Borges K.S., D'Avila R.C., Campos M.L., Coelho C.M., Miquelluti D.J., Galvan N. **2016**. Germination and initial development of *Brachiaria brizantha* and *Brachiaria decumbens* on exposure to cadmium, lead and copper. *Journal of Seed Science* 38(4):335-343. DOI: [10.1590/2317-1545v38n4165265](https://doi.org/10.1590/2317-1545v38n4165265)
- Boudjelal A., Henchiri C., Siracusa L., Sari M., Ruberto G. **2012**. Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian *Marrubium vulgare* L. infusion. *Fitoterapia* 83(2):286-292. DOI: [10.1016/j.fitote.2011.11.005](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.11.005)
- 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)
- Carović-Stanko K., Petek M., Grdiša M., Pintar J., Bedeković D., Čustić M., Satović Z. **2016**. Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods – a review. *Czech Journal of Food Sciences* 34(5):377-390. DOI: [10.17221/504/2015-CJFS](https://doi.org/10.17221/504/2015-CJFS)
- Chugh L.K., Sawhney S.K. **1999**. Effect of cadmium on activities of some enzymes of glycolysis and pentose phosphate pathway in pea. *Biologia Plantarum* 42:401-407. DOI: [10.1023/A:1002417319599](https://doi.org/10.1023/A:1002417319599)

- Clemens S. **2006**. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88(11):1707-1719. DOI: [10.1016/j.biochi.2006.07.003](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.07.003)
- Cosio C., DeSantis L., Frey B., Diallo S., Keller C. **2005**. Distribution of cadmium in leaves of *Thlaspi caerulescens*. *Journal of Experimental Botany* 56(412):765-775. DOI: [10.1093/jxb/eri062](https://doi.org/10.1093/jxb/eri062)
- da Silva Cunha L.F., de Oliveira V.P., do Nascimento A.W., da Silva B.R., Batista B.L., Alsahli A.A., da Silva Lobato A.K. **2020**. Leaf application of 24-epibrassinolide mitigates cadmium toxicity in young *Eucalyptus urophylla* plants by modulating leaf anatomy and gas exchange. *Physiologia Plantarum* 173(1):67-87. DOI: [10.1111/ppl.13182](https://doi.org/10.1111/ppl.13182)
- Das P., Samantaray S., Rout G.R. **1997**. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution* 98(1):29-36. PII: [S0269-7491\(97\)00110-3](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(97)00110-3)
- Das P.K., Das B.P., Dash P. **2021**. Chromite mining pollution, environmental impact, toxicity and phytoremediation: a review. *Environmental Chemistry Letters* 19:1369-1381. DOI: [10.1007/s10311-020-01102-w](https://doi.org/10.1007/s10311-020-01102-w)
- Datta J., Bandhyopadhyay A.K., Banerjee A., Mondal N.K. **2011**. Phytotoxic effect of chromium on the germination, seedling growth of some wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under laboratory condition. *International Journal of Agricultural Technology* 7(2):395-402. <http://www.ijat-aatsea.com> ISSN 1686-9141
- Davies F.T., Puryear J.D., Newton R.J., Egilla J.N., Grossi J.A. **2001**. Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*). *Journal of Plant Physiology* 158(6):777-786. DOI: [10.1078/0176-1617-00311](https://doi.org/10.1078/0176-1617-00311)
- Davies F.T., Puryear J.D., Newton R.J., Egilla J.N., Grossi J.A. **2002**. Mycorrhizal fungi increase chromium uptake by sunflower plants: influence on tissue mineral concentration, growth, and gas exchange. *Journal of Plant Nutrition* 25(11):2389-2407. DOI: [10.1081/PLN-120014702](https://doi.org/10.1081/PLN-120014702)
- De la Rosa G., Peralta-Videa J.R., Montes M., Parsons J.G., Cano-Aguilera I., Gardea-Torresdey J.L. **2004**. Cadmium uptake and translocation in tumbleweed (*Salsola*

- kali*), a potential Cd-hyperaccumulator desert plant species: ICP/OES and XAS studies. *Chemosphere* 55(9):1159-1168. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2004.01.028](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.01.028)
- Djebali W., Chaïbi W., Ghorbel M.H. **2002**. Growth, peroxidase activity and ultrastructural modifications induced by cadmium in tomato roots. *Canadian Journal of Botany* 80(9):942-953. DOI: [10.1139/b02-062](https://doi.org/10.1139/b02-062)
- Dobrikova A.G., Apostolova E.L., Hanč A., Yotsova E., Borisova P., Sperdouli I., Adamakis I.D. **2021**. Cadmium toxicity in *Salvia sclarea* L.: an integrative response of element uptake, oxidative stress markers, leaf structure and photosynthesis. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 209:111851. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2020.111851](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111851)
- 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](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)
- El Rasafi T., Nouri M., Bouda S., Haddioui A. **2016**. The Effect of Cd, Zn and Fe on seed germination and early seedling growth of wheat and bean. *Ekológia (Bratislava)* 35(3):213-223. DOI: [10.1515/eko-2016-0017](https://doi.org/10.1515/eko-2016-0017)
- 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/)
- Farooq M.A., Ali S., Hameed A., Bharwana S.A., Rizwan M., Ishaque W., Farid M., Mahmood K., Iqbal Z. **2016**. Cadmium stress in cotton seedlings: physiological, photosynthesis and oxidative damages alleviated by glycinebetaine. *South African Journal of Botany* 104:61-68. DOI: [10.1016/j.sajb.2015.11.006](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.11.006)
- 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)
- Gallego S.M., Pena L.B., Barcia R.A., Azpilicueta C.E., Iannone M.F., Rosales E.P., Zawoznik M.S., Groppa M.D., Benavides M.P. **2012**. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany* 83:33-46. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2012.04.006](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.04.006)
- Genchi G., Sinicropi M.S., Lauria G., Carocci A., Catalano A. **2020**. The effects of cadmium toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(11):3782-413. DOI: [10.3390/ijerph17113782](https://doi.org/10.3390/ijerph17113782)
- Gerhardt K.E., Huang X.D., Glick B.R., Greenberg B.M. **2009**. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: potential and challenges. *Plant Science* 176(1):20-30. DOI: [10.1016/j.plantsci.2008.09.014](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.09.014)
- Gill R.A., Zang L., Ali B., Farooq M.A., Cui P., Yang S., Ali S., Zhou W. **2015**. Chromium-induced physio-chemical and ultrastructural changes in four cultivars of *Brassica napus* L. *Chemosphere* 120:154-164. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2014.06.029](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.029)
- Goldberg R.B., de Paiva G., Yadegari R. **1994**. Plant embryogenesis: zygote to seed. *Science* 266:605-614. <https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2016/08/Goldberg-et-al-1994.pdf>
- Grison C. **2022**. Phytoremédiation : restauration des sols pollués par les végétaux. *Encyclopédie de l'Environnement*. [http://www.encyclopedie-environnement.org/sol/ISSN 2555-0950](http://www.encyclopedie-environnement.org/sol/ISSN%202555-0950)
- Gubrelay U., Agnihotri R.K., Singh G., Kaur R., Sharma R. **2013**. Effect of heavy metal Cd on some physiological and biochemical parameters of Barley (*Hordeum vulgare* L.). *International Journal of Agriculture and Crop Science* 5(22):2743-2751. ISSN: 2227-670X © 2013 IJACS Journal
- Gupta A.K., Sinha S. **2006**. Chemical fractionation and heavy metal accumulation in the plant of *Sesamum indicum* (L.) var. T55 grown on soil amended with tannery sludge: selection of single extractants. *Chemosphere* 64(1):161-173. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2005.10.016](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.10.016)

- Haider F.U., Liqun C., Coulter J.A., Cheema S.A., Wu J., Zhang R., Wenjun M., Farooq M. **2021**. Cadmium toxicity in plants: impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 211:111887. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2020.111887](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111887)
- Haratym W., Weryszko-Chmielewska E. **2017**. Ultrastructural and histochemical analysis of glandular trichomes of *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae). *Flora* 231:11-21. DOI: [10.1016/j.flora.2017.04.001](https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.04.001)
- 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)
- He J., Ren Y., Zhu C., Jiang D. **2008**. Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and seed amylase activities in rice (*Oryza sativa*). *Rice Science* 15(4):319-325. DOI: [10.1016/S1672-6308\(09\)60010-X](https://doi.org/10.1016/S1672-6308(09)60010-X)
- Heller R., Esnault R., Lance C. **2004**. Physiologie végétale. Développement 6<sup>ème</sup> édition. Editions Dunod, Paris, 384 pages. ISBN 978-2-10-048711-0
- Hilhorst H.W., Karssen C.M. **1992**. Seed dormancy and germination: the role of abscisic acid and gibberellins and the importance of hormone mutants. *Plant Growth Regulation* 11:225-238. DOI: [10.1007/BF00024561](https://doi.org/10.1007/BF00024561)
- Hopkins W.G. **2003**. Physiologie végétale. Traduction de la 2<sup>ème</sup> édition américaine par S. Rambour, révision scientifique de C.M. Evrard. Editions De Boeck Université, Bruxelles, 514 pages. ISBN 2-7445-0089-5
- Hu J., Deng Z., Wang B., Zhi Y., Pei B., Zhang G., Luo M., Huang B., Wu W., Huang B. **2015**. Influence of heavy metals on seed germination and early seedling growth in *Crambe abyssinica*, a potential industrial oil crop for phytoremediation. *American Journal of Plant Science* 6(1):150-156. DOI: [10.4236/ajps.2015.61017](https://doi.org/10.4236/ajps.2015.61017)
- Jain R., Srivastava S., Madan V.K. **2000**. Influence of chromium on growth and cell division of sugarcane. *Indian Journal of Plant Physiology* 5(3):228-231. ISSN: 0019-5502

- Julve P. **2021**. Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. [www.tela-botanica.org/projets/phytosociologie](http://www.tela-botanica.org/projets/phytosociologie)
- Jun R., Ling T., Guanhua Z. **2009**. Effects of chromium on seed germination, root elongation and coleoptile growth in six pulses. *International Journal of Environmental Science & Technology* 6:571-578. DOI: [10.1007/BF03326097](https://doi.org/10.1007/BF03326097)
- Kabata-Pendias A., Szteke B. **2015**. Chromium [Cr, 24]. *Chapter 12 In Book: Trace elements in abiotic and biotic environments. 1<sup>st</sup> Edition, Boca Raton, FL, USA, CRC Press, 9 pages.* eBook ISBN: [9780429161513](https://doi.org/9780429161513)
- Kakkalameeli S.B., Daphedar A., Govindappa M., Taranath T.C. **2021**. Effect of chromium on morphological and biochemical responses on aquatic macrophyte *Pistia stratiotes* L. (water lettuce). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 12(1):633-639. DOI: [10.13040/IJPSR.0975-8232.12\(1\).633-39](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.12(1).633-39)
- Kalai T., Khamassi K., Teixeira da Silva J.A., Gouia H., Ben Kaab L. **2014**. Cadmium and copper stress affect seedling growth and enzymatic activities in germinating barley seeds. *Archives of Agronomy and Soil Science* 60(6):765-783. DOI: [10.1080/03650340.2013.838001](https://doi.org/10.1080/03650340.2013.838001)
- Kalai T., Bouthour D., Manai J., Ben Kaab L., Gouia H. **2016**. Salicylic acid alleviates the toxicity of cadmium on seedling growth, amylases and phosphatases activity in germinating barley seeds. *Archives of Agronomy and Soil Science* 62(6):892-904. DOI: [10.1080/03650340.2015.1100295](https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1100295)
- Kathal R., Malhotra P., Chaudhary V. **2016**. Phytoremediation of cadmium from polluted soil. *Journal of Bioremediation & Biodegradation* 7(6):376. DOI: [10.4172/2155-6199.1000376](https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000376)
- Khan A.G. **2001**. Relationships between chromium biomagnification ratio, accumulation factor, and mycorrhizae in plants growing on tannery effluent-polluted soil. *Environment International* 26(5-6):417-423. DOI: [10.1016/S0160-4120\(01\)00022-8](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00022-8)
- Khan F.I., Husain T., Hejazi R. **2004**. An overview and analysis of site remediation technologies. *Journal of Environmental Management* 71(2):95-122. DOI: [10.1016/j.envman.2004.02.003](https://doi.org/10.1016/j.envman.2004.02.003)

- Ko K.S., Lee P.K., Kong I.C. **2012**. Evaluation of the toxic effects of arsenite, chromate, cadmium, and copper using a battery of four bioassays. *Applied Microbiology and Biotechnology* 95(5):1343-1350. DOI: [10.1007/s00253-011-3724-2](https://doi.org/10.1007/s00253-011-3724-2)
- Kranner I., Colville L. **2011**. Metals and seeds: biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environmental and Experimental Botany* 72(1):93-105. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2010.05.005](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.05.005)
- Kuriakose S.V., Prasad M.N. **2008**. Cadmium stress affects seed germination and seedling growth in *Sorghum bicolor* (L.) Moench by changing the activities of hydrolyzing enzymes. *Plant Growth Regulation* 54:143-156. DOI: [10.1007/s10725-007-9237-4](https://doi.org/10.1007/s10725-007-9237-4)
- Lang G.A., Early J.D., Martin G.C., Darnell R.L. **1987**. Endo-, para-, and ecdormancy: physiological terminology and classification for dormancy research. *HortScience* 22(3):371-377. <File:///C:/Users/Master/Downloads/2327-9834-article-p371.pdf>
- Lata S., Kaur H.P., Mishra T. **2019**. Cadmium bioremediation: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 10(9):4120-4128. DOI: [10.13040/IJPSR.0975-8232.10\(9\).4120-28](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10(9).4120-28)
- Lee K., Bae D.W., Kim S.H., Han H.J., Liu X., Park H.C., Lim C.O., Lee S.Y., Chung W.S. **2010**. Comparative proteomic analysis of the short-term responses of rice roots and leaves to cadmium. *Journal of Plant Physiology* 167(3):161-168. DOI: [10.1016/j.plph.2009.09.006](https://doi.org/10.1016/j.plph.2009.09.006)
- Levizou E., Zanni A.A., Antoniadis V. **2019**. Varying concentrations of soil chromium (VI) for the exploration of tolerance thresholds and phytoremediation potential of the oregano (*Origanum vulgare*). *Environmental Science and Pollution Research International* 26(1):14-23. DOI: [10.1007/s11356-018-2658-y](https://doi.org/10.1007/s11356-018-2658-y)
- Li Z., Wu L., Luo Y., Christie P. **2018**. Changes in metal mobility assessed by EDTA kinetic extraction in three polluted soils after repeated phytoremediation using a cadmium/zinc hyperaccumulator. *Chemosphere* 194:432-440. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2017.12.005](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.005)
- Liza S.J., Shethi K.J., Rashid P. **2020**. Effects of cadmium on the anatomical structures of vegetative organs of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Dhaka University Journal of Biological Sciences* 29(1):45-52. DOI: [10.3329/dujbs.v29i1.46530](https://doi.org/10.3329/dujbs.v29i1.46530)



- 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)
- Ma Q., Cao X., Ma J., Tan X., Xie Y., Xiao H., Wu L. **2017**. Hexavalent chromium stress enhances the uptake of nitrate but reduces the uptake of ammonium and glycine in pak choi (*Brassica chinensis* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 139:384-393. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2017.02.009](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.009)
- Mahajan P., Kaushal J. **2018**. Role of phytoremediation in reducing cadmium toxicity in soil and water. *Journal of Toxicology* 2018:1-16. DOI: [10.1155/2018/4864365](https://doi.org/10.1155/2018/4864365)
- Mahmood T., Islam K.R., Muhammad S. **2007**. Toxic effects of heavy metals on early growth and tolerance of cereal crops. *Pakistan Journal of Botany* 39(2):451-462. ISSN: 0556-3321
- Marchiol L., Leita L., Martin M., Peressotti A., Zerbi G. **1996**. Physiological responses of two soybean cultivars to cadmium. *Journal of Environmental Quality* 25(3):562-566. DOI: [10.2134/jeq1996.00472425002500030022x](https://doi.org/10.2134/jeq1996.00472425002500030022x)
- Marouf A., Raynaud J. **2007**. La botanique de A à Z : 1662 définitions. *Editions Dunod, Paris, 342 pages*. ISBN 978-2-10-0506385-5
- Masoodi M., Ali Z., Liang S., Yin H., Wang W., Khan I.A. **2015**. Labdane diterpenoids from *Marrubium vulgare*. *Phytochemistry Letters* 13:275-279. DOI: [10.1016/j.phytol.2015.07.005](https://doi.org/10.1016/j.phytol.2015.07.005)
- Mazliak P. **1998**. Physiologie végétale. Croissance et développement. *Editions Hermann, Paris, 575 pages*. ISBN 978-2-7056-6349-0
- 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)
- Mihoub A., Chaoui A., El Ferjani E. **2005**. Changements biochimiques induits par le cadmium et le cuivre au cours de la germination des grains de petit pois (*Pisum*



- sativum* L.). *Comptes Rendus Biologies* 328(1):33-41. DOI: [10.1016/j.crvi.2004.10.003](https://doi.org/10.1016/j.crvi.2004.10.003)
- Mirmazloun I., Kiss A., Erdélyi E., Ladányi M., Németh E., Radácsi P. **2020**. The effect of osmopriming on seed germination and early seedling characteristics of *Carum carvi* L. *Agriculture* 10(4):94. DOI: [10.3390/agriculture10040094](https://doi.org/10.3390/agriculture10040094)
- 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)
- Mizushima M.Y., Ferreira B.G., França M.G., Almeida A.A., Cortez P.A., Silva J.V., Jesus R.M., Prasad M.N., Mangabeira P.A. **2019**. Ultrastructural and metabolic disorders induced by short-term cadmium exposure in *Avicennia schaueriana* plants and its excretion through leaf salt glands. *Plant Biology* 21(5):844-853. DOI: [10.1111/plb.12992](https://doi.org/10.1111/plb.12992)
- Mondal N.K., Das C., Roy S., Datta J.K., Banerjee A. **2013**. Effect of varying cadmium stress on chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedlings: an ultrastructural study. *Annals of Environmental Science* 7(1):59-70. <https://openjournals.neu.edu/aes/journal/article/view/v7art5>
- Morot-Gaudry J.F., Lepiniec L., Prat R. **2021**. Biologie végétale. Croissance et développement 4<sup>ème</sup> édition. Editions Dunod, Paris, 274 pages. ISBN 978-2-10-082358-1
- Nath K., Singh D., Shyam S., Sharma Y.K. **2008**. Effect chromium and tannery effluent toxicity on metabolism and growth in cowpea (*Vigna sinensis* L. Saviex Hassk) seedling. *Research in Environment and Life Science* 1(3):91-94. ISSN: 0974-4908 / [http://www.geocities.com/rel\\_sci](http://www.geocities.com/rel_sci)
- 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)

- Nikolić N., Zorić L., Cvetković I., Pajević S., Borišev M., Orlović S., Pilipović A. **2017**. Assessment of cadmium tolerance and phytoextraction ability in young *Populus deltoides* L. and *Populus x euramericana* plants through morpho-anatomical and physiological responses to growth in cadmium enriched soil. *iForest – Biogeosciences and Forestry* 10(3):635-644. DOI: [10.3832/for2165-010](https://doi.org/10.3832/for2165-010)
- Oyuela Leguizamo M.A., Fernández Gómez W.D., Sarmiento M.C. **2017**. Native herbaceous species with potential use in phytoremediation of heavy metals, spotlight on wetlands – a review. *Chemosphere* 168:1230-1247. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2016.10.075](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.075)
- 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)
- Popoola O.K., Elbagory A.M., Ameer F., Hussein A. **2013**. Marrubiin. *Molecules* 18(8):9049-9060. DOI: [10.3390/molecules18089049](https://doi.org/10.3390/molecules18089049)
- Popova L.P., Maslenskova L.T., Ivanova A.P., Stoinova Z. **2012**. Role of salicylic acid in alleviating heavy metal stress. P. Ahmad, M.N. Prasad (Eds.), *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change*. Springer, New York, Dordrecht, Heidelberg, London, pp. 441-466. DOI: [10.1007/978-1-4614-0815-4\\_21](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0815-4_21)
- Punz W.F., Sieghardt H. **1993**. The responses of roots of herbaceous plant species to heavy metals. *Environmental and Experimental Botany* 33(1):85-98. DOI: [10.1016/0098-8472\(93\)90058-N](https://doi.org/10.1016/0098-8472(93)90058-N)
- Quezel P., Santa S. **1963**. Nouvelle flore de l'Algérie et de ses régions désertiques méridionales. Tome II. Paris, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique. In : *La Terre et la Vie, Revue d'histoire Naturelle, tome 18, N°2, 1964, p.238*. [www.persee.fr/doc /revec\\_0040-3865\\_1964\\_num\\_18\\_2\\_4410\\_t1\\_0238\\_0000\\_2](http://www.persee.fr/doc/revec_0040-3865_1964_num_18_2_4410_t1_0238_0000_2)
- Rai P.K., Lee S.S., Zhang M., Tsang Y.F., Kim K.H. **2019**. Heavy metals in food crops: health risks, fate, mechanisms, and management. *Environment International* 125:365-385. DOI: [10.1016/j.envint.2019.01.067](https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.067)

- Raskin I., Kumar P.N., Dushenkov S., Salt D.E. **1994**. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotechnology* 5(3):285-290. DOI: [10.1016/0958-1669\(94\)90030-2](https://doi.org/10.1016/0958-1669(94)90030-2)
- Rauser W.E. **1995**. Phytochelatins and related peptides: structure, biosynthesis, and function. *Plant Physiology* 109(4):1141-1149. <https://www.jstor.org/stable/4276913>
- Rauser W.E. **1999**. Structure and function of metal chelators produced by plants: the case for organic acids, amino acids, phytin, and metallothioneins. *Cell Biochemistry and Biophysics* 31(1):19-48. DOI: [10.1007/BF02738153](https://doi.org/10.1007/BF02738153)
- Raychaudhuri S.S., Pramanick P., Talukder P., Basak A. **2021**. Chapter 6 – Polyamines, metallothioneins, and phytochelatins-Natural defense of plants to mitigate heavy metals. *Part of volume, Bioactive Natural Products, Edited by Atta-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)
- Revathy K., Shanker S.R. **2023**. Effect of cadmium stress on seed germination and seedling morpho-physiological growth parameters of barnyard millet (*Echinochloa frumentacea* Link). *Plant Science Today* 10(1):252-260. DOI: [10.14719/pst.2012](https://doi.org/10.14719/pst.2012)
- Rivetta A., Negrini N., Cocucci M. **1997**. Involvement of Ca<sup>2+</sup>-calmodulin in Cd<sup>2+</sup> toxicity during the early phases of radish (*Raphanus sativus* L.) seed germination. *Plant Cell Environment* 20:600-608. DOI: [10.1111/j.1365-3040.1997.00072.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1997.00072.x)
- Rizwan M., Ali S., Adrees M., Rizvi H., Zia-ur-Rehman M., Hannan F., Qayyum M.F., Hafeez F., Sik Ok Y. **2016**. Cadmium stress in rice: toxic effects, tolerance mechanisms, and management: a critical review. *Environmental Science and Pollution Research* 23:17859-17879. DOI: [10.1007/s11356-016-6436-4](https://doi.org/10.1007/s11356-016-6436-4)
- Salt D.E., Blaylock M., Kumar N.P., Dushenkov V., Ensley B.D., Chet I., Raskin I. **1995**. Phytormediation: anovel strategy for the removal of toxic metals from the

- environment using plants. *Nature Biotechnology* 13:468-474. DOI: [10.1038/nbt0595-468](https://doi.org/10.1038/nbt0595-468)
- Samantaray S., Rout G.R., Das P. **1998**. Role of chromium on plant growth and metabolism. *Acta Physiologiae Plantarum* 20:201-212. DOI: [10.1007/s11738-998-0015-3](https://doi.org/10.1007/s11738-998-0015-3)
- Sanità di Toppi L., Gabbrielli R. **1999**. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41(2):105-130. DOI: [10.1016/S0098-8472\(98\)00058-6](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(98)00058-6)
- Saud S., Wang D., Fahad S., Javed T., Jaremko M., Abdelsalam N.R., Ghareeb R.Y. **2022**. The impact of chromium ion stress on plant growth, developmental physiology, and molecular regulation. *Frontiers in Plant Science* 13:1-16. DOI: [10.3389/fpls.2022.994785](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.994785)
- Selvi S., Polat R., Cakilcioğlu U., Celep F., Dirmenci T., Ertuğ Z. **2022**. An ethnobotanical review on medicinal plants of the Lamiaceae family in Turkey. *Turkish Journal of Botany* 46(4):283-332. DOI: [10.55730/1300-008X.2712](https://doi.org/10.55730/1300-008X.2712)
- Shah K., Nahakpam S., Chaturvedi V., Singh P. **2019**. Cadmium-induced anatomical abnormalities in plants. In *Cadmium toxicity and tolerance in plants*. M. Hasanuzzaman, M.N.V. Prasad, and M. Fujita (Eds.), Academic Press, Amsterdam, Elsevier, 111-139. DOI: [10.1016/B978-0-12-814864-8.00005-X](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814864-8.00005-X)
- Shahid M., Shamshad S., Rafiq M., Khalid S., Bibi I., Niazi N.K., Dumat C., Rashid M.I. **2017**. Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: a review. *Chemosphere* 178:513-533. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2017.03.074](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.074)
- Shanker A.K., Cervantes C., Loza-Tavera H., Avudainayagam S. **2005**. Chromium toxicity in plants. *Environment International* 31(5):739-753. DOI: [10.1016/j.envint.2005.02.003](https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.02.003)
- Sharma A., Kapoor D., Wang J., Shahzad B., Kumar V., Bali A.S., Jasrotia S., Zheng B., Yuan H., Yan D. **2020**. Chromium bioaccumulation and its impacts on plants: an overview. *Plants* 9(1):100. DOI: [10.3390/plants9010100](https://doi.org/10.3390/plants9010100)

- Shen X., Dai M., Yang J., Sun L., Tan X., Peng C., Ali I, Naz I. **2022**. A critical review on the phytoremediation of heavy metals from environment: performance and challenges. *Chemosphere* 291(3):132979. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2021.132979](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132979)
- Singh A.K. **2001**. Effect of trivalent and hexavalent chromium on spinach (*Spinacea oleracea* L.). *Environment & Ecology* 19(4):807-810. ISSN: 0970-0420
- Singh H.P., Mahajan P., Kaur S., Batish D.R., Kohli R.K. **2013**. Chromium toxicity and tolerance in plants. *Environmental Chemistry Letters* 11:229-254. DOI: [10.1007/s10311-013-0407-5](https://doi.org/10.1007/s10311-013-0407-5)
- Srivastava V., Sarkar A., Singh S., Singh P., de Araujo A.S., Singh R.P. **2017**. Agroecological responses of heavy metal pollution with special emphasis on soil health and plant performances. *Frontiers in Environmental Science* 5:64. DOI: [10.3389/fenvs.2017.00064](https://doi.org/10.3389/fenvs.2017.00064)
- Srivastava D., Tiwari M., Dutta P., Singh P., Chawda K., Kumari M., Chakrabarty D. **2021**. Chromium stress in plants: toxicity, tolerance, and phytoremediation. *Sustainability* 13(9):4629. DOI: [10.3390/su13094629](https://doi.org/10.3390/su13094629)
- Stefanello R., Viana B.B., das Neves L.A. **2019**. Cadmium toxicity on seed germination and initial growth of chia. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 41:e42174. DOI: [10.4025/actascibiolsci.v41i1.42174](https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v41i1.42174)
- Sterckeman T., Ouvrard S., Leglize P. **2011**. Phytoremédiation des sols. In: Bioprocédés dans les domaines de l'énergie et de l'environnement, *Publisher : Editions Techniques de l'Ingénieur pp. BIO 5 300, 1-10*. <https://www.researchgate.net/publication/327631239>
- Sun Y.D., Luo W.R. **2014**. Effects of exogenous hydrogen sulphide on seed germination and seedling growth of cucumber (*Cucumis sativus*) under sodium bicarbonate stress. *Seed Science and Technology* 42(2):126-131. DOI: [10.15258/sst.2014.42.2.02](https://doi.org/10.15258/sst.2014.42.2.02)
- Susarla S., Medina V.F., McCutcheon S.C. **2002**. Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering* 18(5):647-658. DOI: [10.1016/S0925-8574\(02\)00026-5](https://doi.org/10.1016/S0925-8574(02)00026-5)

- Tang J., Xu J., Wu Y., Li Y., Tang Q. **2012**. Effects of high concentration of chromium stress on physiological and biochemical characters and accumulation of chromium in tea plant (*Camellia sinensis* L.). *African Journal of Biotechnology* 11(9):2248-2255. DOI: [10.5897/AJB.11.2402](https://doi.org/10.5897/AJB.11.2402)
- Tran T.A., Popova L.P. **2013**. Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turkish Journal of Botany* 37(1):1-13. DOI: [10.3909/bot-1112-16](https://doi.org/10.3909/bot-1112-16)
- Uritu C., Mihai C., Stanciu G.D., Dodi G., Alexa-Stratulat T., Luca A., Leon-Constantin M.M., Stefanescu R., Bild V., Melnic S., Tamba B. **2018**. Medicinal plants of the family Lamiaceae in pain therapy: A review. *Pain Research and Management, Article ID 7801543*. DOI: [10.1155/2018/7801543](https://doi.org/10.1155/2018/7801543)
- Vange V., Heuch I., Vandvik V. **2004**. Do seed mass and family affect germination and juvenile performance in *Knautia arvensis*? A study using failure-time methods. *Acta Oecologica* 25(3):169-178. DOI: [10.1016/j.actao.2004.01.002](https://doi.org/10.1016/j.actao.2004.01.002)
- Vassilev A., Schwitzguebel J.P., Thewys T., van der Lelie D., Vangronsveld J. **2004**. The use of plants for remediation of metal-contaminated soils. *The Scientific World Journal* 4:637619. DOI: [10.1100/tsw.2004.2](https://doi.org/10.1100/tsw.2004.2)
- Wagner G.J. **1993**. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Advances in Agronomy* 51:173-212. DOI: [10.1016/S0065-2113\(08\)60593-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60593-3)
- Wechtler L. **2020**. Amélioration de la phytoremédiation par *Miscanthus x giganteus* d'un technosol contaminé construit à partir de sédiments : co-culture avec *Trifolium repens* L. et bioaugmentation avec des microorganismes endémiques. *Thèse de Doctorat en Ecotoxicologie, Biodiversité, Ecosystèmes, Université de Lorraine, Laboratoire Sols & Environnement, 229 pp.* [docnum.univ-lorraine.fr/public/DDOC\\_T\\_2020\\_0221\\_WECHTLER.pdf](https://docnum.univ-lorraine.fr/public/DDOC_T_2020_0221_WECHTLER.pdf)
- 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)

- 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)
- 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)
- Zayed A.M., Terry N. **2003**. Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. *Plant and Soil* 249:139-156. DOI: [10.1023/A:1022504826342](https://doi.org/10.1023/A:1022504826342)
- Zeid I.M. **2001**. Responses of *Phaseolus vulgaris* chromium and cobalt treatments. *Biologia Plantarum* 44(1):111-115. DOI: [10.1023/A:1017934708402](https://doi.org/10.1023/A:1017934708402)
- 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., Jiang W., Xiukang W., Hussain S., Ahmad M., Maqsood M.F., Ali N., Ishfaq M., Kaleem M., Haider F.U., Farooq N., Naveed M., Kucerik J., Brtnicky M., Mustafa A. **2022**. Cadmium phytotoxicity, tolerance, and advanced remediation approaches in agricultural soils; a comprehensive review. *Frontiers in Plant Science* 13:773815. DOI: [10.3389/fpls.2022.773815](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.773815)
- Zulfiqar U., Haider F.U., Ahmad M., Hussain S., Maqsood M.F., Ishfaq M., Shahzad B., Waqas M.M., Ali B., Tayyab M.N., Ahmad S.A., Khan I., Eldin S.M. **2023**. Chromium toxicity, speciation, and remediation strategies in soil-plant interface: A critical review. *Frontiers in Plant Science* 13:1081624. DOI: [10.3389/fpls.2022.1081624](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1081624)



## RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude est de déterminer et de comparer les effets inhibiteurs de deux éléments traces métalliques (ETM) sur la germination des graines de *Marrubium vulgare* L., ainsi que sur les premiers stades de croissance et de développement des plantules qui en sont issues. Les deux ETM testés sont le cadmium apporté sous forme de nitrate de cadmium ( $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ) et le chrome apporté sous forme de dichromate de potassium ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), utilisés avec des concentrations croissantes de 50, 100, 150 et 200 ppm.

Les résultats de la germination des graines ont montré une résistance aux deux types de stress métalliques, ainsi que pour toutes les concentrations testées, en témoigne le taux maximum de germination atteint de 97%. Cependant, les analyses biométriques des racines et de l'hypocotyle ont révélé une sensibilité des plantules au Cd et au Cr, avec une réduction significative de leur longueur par rapport aux témoins. Cette réduction était plus prononcée pour le Cd que pour le Cr, et elle s'est intensifiée avec l'augmentation des concentrations testées. Par ailleurs, la réponse protéinique des plantules de *Marrubium vulgare* L. face au stress métallique a montré une diminution du contenu en protéines solubles, notamment aux concentrations les plus élevées en Cd et en Cr.

Après transfert en pot sur substrat sain, l'analyse hebdomadaire de la longueur du 1<sup>er</sup> axe feuillé qui s'est développé, a également révélé des différences significatives entre les témoins et les traités. Le Cd s'est avéré être plus inhibiteur du développement de cet axe feuillé que le Cr aux concentrations les plus élevées.

Dans l'ensemble, ces résultats mettent en évidence la complexité des interactions entre les éléments traces métalliques et les plantes, où la germination des graines semble être le processus le plus résistant aux stress métalliques que les stades ultérieurs de croissance et de développement des plantules puis des plantes.

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

## ABSTRACT

The objective of this study is to determine and compare the inhibitory effects of two trace metal elements (TMEs) on the germination of *Marrubium vulgare* L. seeds, as well as on the early stages of growth and development of the resulting seedlings. The two TMEs tested are cadmium supplied as cadmium nitrate ( $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ) and chromium supplied as potassium dichromate ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), used at increasing concentrations of 50, 100, 150 and 200 ppm.

The results of seed germination revealed resistance to both types of metal stress and for all tested concentrations, as evidenced by the maximum germination rate achieved of 97%. However, the biometric analyses of the roots and hypocotyls revealed sensitivity of the seedlings to Cd and Cr, with a significant reduction in their length compared to the controls. This reduction was more pronounced for Cd than for Cr, and it intensified with increasing concentrations tested. Moreover, the protein response of *Marrubium vulgare* L. seedlings to metal stress showed a decrease in soluble protein content, especially at the highest concentrations of Cd and Cr.

After transfer to pots in healthy substrate, weekly analysis of the length of the first developed leaf axis also revealed significant differences between the controls and the treatments. Cd was found to be more inhibitory to the development of this leaf axis than Cr at the highest concentrations.

Overall, these results highlight the complexity of interactions between trace metal elements and plants, where seed germination appears to be the most resistant process to metal stress than later stages of growth and development of seedling and plant.

**Keywords:** *Marrubium vulgare* L. ; cadmium ; chromium ; germination ; biometric analyses ; water status ; protein.

