

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA- Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des sciences biologiques de l'environnement

Spécialité Toxicologie Industrielle et Environnementale



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Étude de l'effet du nickel sur la réponse germinative,
l'expression biométrique et biochimique des pousses de
l'*Acacia cyanophylla* et *Ceratonia siliqua*.**

Préparé par :

Izem kenza & Mammeri meriam

Soutenu le : 26/06/2024

Devant le jury composé de :

Mr. Benadjaoud Ali

MCA

Président

Mr. Dadach Mohammed

MCA

Promoteur

Mr. Hamlat Mourad

MCB

Examineur

Année universitaire : 2023 - 2024

وَمَا يَتَّبِعُكَ فِي الْمَقَابِلِ إِلَّا إِلَهُ مُمْتَلِكُ

Remerciement :

*Tout d'abord, nous tenons à remercier **ALLAH**, qui nous a donné la force, la santé, le courage et la patience pour être ce que nous sommes aujourd'hui et pour mener à terme ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre Promoteur Mr **Dadach Mohammed** pour ses précieuses orientations, son aide, ses conseils et son souci de réaliser ce travail de recherche.*

Nous remercions aussi très sincèrement les membres de jury.

*Le président Mr **Benadjoud Ali** ainsi que l'examineur Mr **Samlat Mourad** d'avoir accepté d'examiner ce travail et de nous avoir honorées par leur présence le jour de la soutenance.*

*Nos vifs remerciements à l'ingénieure de laboratoire Mme **Boudersa Samira** pour son aide et son encouragement*

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

MERCI À TOUS...

MERCI POUR TOUT...

Dédicace

Je rends grâce à Dieu le tout puissant qui m'a permis de mener à bien ce projet de fin d'études.

Je dédie ce modeste travail à :

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, mon soutien moral, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, **maman**.*

*À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, ma source de joie, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, **mon père**.*

« Chers parents, je vous remercie de tout cœur pour avoir façonné la personne que je suis devenue. Aucune dédicace ne saurait pleinement exprimer mon respect, ma reconnaissance et mon immense admiration pour vous. Que ce travail soit le reflet de mon affection et de mon profond amour envers vous. »

Je prie Dieu de vous garder près de moi et de vous accorder santé et bien-être.

À mon cher frère Khiar et à sa femme Kenza, je vous souhaite un avenir radieux plein de réussite

À mes sœurs Akila, Lyla et Anissa. Je vous souhaite également un avenir brillant et rempli de succès.

À mes petites cœurs, mes nièces : Céline, Céline.

À mes chères tantes maternelles Razika et Hamida, votre amour et votre soutien inconditionnels ont toujours été une source de force pour moi. Merci d'être des modèles d'inspiration et de générosité dans ma vie. Je vous aime profondément.

À ma binôme Meriam, merci pour ton soutien et ta collaboration inestimables. Aux personnes que j'aime et à tous ceux qui m'ont aidée de près ou de loin.

RÉSISTE, NE TE RENDS PAS, TU Y ARRIVERAS.



Kenza izem

Dédicace

Je dédie ce travail

*À Ma très chère honorable mère,
qui représente pour moi le Symbole de la bonté par excellence,
je te dédie ce travail en Témoignage de mon profond amour,
puisse Dieu le tout-puissant te Préserver et t'accorder santé.*

*À Mon très cher père, aucune dédicace ne saurait
exprimer l'amour, L'estime, le dévouement et le respect que j'ai
toujours eus pour toi.*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon
Education et mon bien-être.*

Je souhaite de tout mon cœur que Dieu les garde près de moi

*A mon frère Saad et à sa femme Waiba
à ma sœur Narimene et à son mari Youcef
à ma sœur Lilia et à son mari Rachid
pour leurs encouragements permanents
et leur soutien moral,
à mes très chers neveux*

Aris et Emrys

*A mon cousin Akli pour son encouragement et ses conseils,
Sans oublier mes chers grands- mères*

A ma binome kenza pour sa entente et sa sympathie

*Aux personnes que j'aime et qui m'ont toujours aidée et encouragée, qui étaient toujours à
mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures.*



Meriam Mammeri

Liste des abréviations

MLs : Métaux lourds.

ppm : Parties par million.

Ni : Nickel.

G (%) : le pourcentage de germination.

TH : taille d' hypocotyle.

TR : taille de radicule.

PF : poids frais.

PS : poids sec.

MVF : matière végétale frais.

MVS : matière végétale sèche.

TFG : taux final des graines germées.

TMG : temps moyen de germination.

NGG : le nombre des graines germées.

G (%) = Pourcentage de germination.

NTG = Nombre totale des graines.

N1 : nombre de graines germées au temps T1.

N2 : nombre de graines germées entre T1 et T2.

TCA : Acide Trichloracétique.

TBA : Acide thiobarbiturique.

BSA : Albumine sérum bovin.

CTA: Acide Trichloracétique.

Tris-HCl: Tris-(hydroxyméthyl)-aminométhane chlorhydrate.

MDA : Malondialdéhyde.

CAT : catalase.

DO: Densité optique.

La liste des tableaux

Tableau 1: Classification systématique de l'espèce <i>Acacia cyanophylla</i>	11
Tableau 2: Classification systématique de l'espèce <i>Ceratonia siliqua (L.)</i>	14
Tableau 3: La masse de Ni pour chaque concentration 1 ppm = 1mg / 1000ml.....	29

La liste des figures

Figure 1: Origine des métaux lourds (Robert et Juste, 1999)	5
Figure 2: Origine des éléments traces métalliques dans le sol. Académie des sciences (1998).	6
Figure 3: Les domaines d'application de la phytoremédiation (Moussavou, 2010).....	7
Figure 4: <i>Acacia cyanophylla</i> (vue générale).....	11
Figure 5: Le caroubier (<i>Ceratonia siliqua L.</i>) (vue générale).....	14
Figure 6: Courbe théorique d'imbibition d'une semence (d'après Côme, 1982).....	18
Figure 7: Schéma du mécanisme de l'apport d'oxygène à l'embryon, à travers les enveloppes séminalles imbibées qui renferment des composés phénoliques. (Côme, 1967)	20
Figure 8: la différence entre la germination épigée et hypogée (kumar, 2015).....	21
Figure 9: Site expérimental de l'université. Abderrahmane Mira à Bejaia.....	22
Figure 10: lieu de récolte des graines d' <i>Acacia cyanophylla</i> (Google Map, 2024).....	23
Figure 11: lieu de récolte des graines de <i>Ceratonia siliqua</i> (Google Map, 2023)	23
Figure 12 : les graines dans l'acide sulfurique (H ₂ SO ₄).....	25
Figure 13: Les graines de caroubier (à gauche) et d'acacia (à droite) après rinçage et désinfection	26
Figure 14: préparations des boîtes pétries et mise en place des graines de L' <i>Acacia cyanophylla</i> et <i>Ceratonia siliqua</i>	26
Figure 15: Les boîtes étiquetées.....	27
Figure 16: imbibition des graines.....	27
Figure 17: boîtes pétries mises en place dans une étuve réglée à 20 °.....	28
Figure 18: Balance magnétique (0.1mg).....	28
Figure 19: les solutions utilisées.....	29
Figure 20: Sulfate de nickel	29
Figure 21: ouverture des boîtes et mesure des tiges et racines des graines après germination à l'aide d'un papier millimétré.....	31
Figure 22: les indicateurs (solutions) chimiques	32

Figure 23: une balance pour peser la matière végétale	33
Figure 24: mortier pour broyer la matière végétale	34
Figure 25: tubes en plastique contenant la solution.....	34
Figure 26: extraction des protéines.....	35
Figure 27: agitation des solutions par vortex.....	36
Figure 28: incubation dans un bain-marie à 95°C	37
Figure 29: tubes à essai contenant la solution.....	38
Figure 30: Les tubes d'Eppendorf dans le bain marie à 95°C.....	40
Figure 31: Les deux phases.....	41
Figure 32: germinations des graines d' <i>Acacia cyanophylla</i>	42
Figure 33: germination des graines de <i>Ceratonia siliqua</i>	42
Figure 34: Effet du nickel sur le pourcentage final de germination des graines de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i> . Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan	43
Figure 35: Effet du nickel sur le temps moyen de germination des graines de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i> . Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan.....	44
Figure 36: Effet du nickel sur la taille des racines des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i> . Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan.....	45
Figure 37: Effet du nickel sur la taille des hypocotyles des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i> . Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan.....	46
Figure 38: Effet du nickel sur le poids frais des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i> . Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan	47
Figure 39: Effet du nickel sur le poids sec des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i> . Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan	48
Figure 40: Effet du nickel sur la teneur en sucres solubles des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i> . Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan.....	49

Figure 41: Effet du nickel sur la teneur en protéines totales des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i> . Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan	50
Figure 42: Effet du nickel sur la teneur en MDA des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i> . Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan	51
Figure 43: Effet du nickel sur l'activité de la catalase chez les pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i> . Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan	52
Figure 44: Effet du nickel sur la teneur en proline libre des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i> . Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan	53

Table des matières

Remercîments

Les dédicaces

Liste des abréviations

La Liste des tableaux

La liste des figures

Introduction1

Partie I:

Synthèse bibliographique

Chapitre I: Les métaux lourds et la phytoremédiation

I- Les métaux lourds.....	4
I-1 Définition.....	4
I-2 Classification des métaux lourds.....	4
I-2-1 Les métaux essentiels	4
I-2-2 Les métaux toxiques	4
I-3 Origine des métaux lourds.....	5
I-3-1 Les sources naturels.....	5
I-3-2 Les sources anthropiques	5
I-4 La pollution par les métaux lourds.....	5
I-4-1 Contamination de l'environnement.....	5
I-4-2 Contamination des sols	6
II La phytoremédiation.....	7
II-1 Définition.....	7
II-2 Technique de la phytoremédiation.....	7
II-2-1 Phytoextraction.....	8
II-2-2 Phytodégradation ou phytotransformation.....	8
II-2-3 Phytovolatilisation.....	8
II-2-4 Rhizo-filtration.....	8
II-2-5 Phyto-stabilization.....	8

II-3 Les espèces phytoremédiantes.....	9
Chapitre II: Généralité sur les espèces	
I Caractères généraux de la famille des Fabacées	10
II <i>Acacia cyanophylla</i>	10
II-1 Terminologie et taxonomie	10
II-1-1 Terminologie	10
II-1-2 Taxonomie	11
II-2 Intérêts et applications de l'acacia	12
II-2-1 Intérêt écologique.....	12
II-2-2 Intérêt agroforestier.....	12
II-2-3 Intérêt fourrager	13
II-2-4 Intérêt pharmaceutique et cosmétique.....	13
III Le Caroubier	13
III-1 Terminologie et taxonomie.....	13
III-1-1 terminologie commune	13
III-1-2 La taxonomie	14
III-2 Utilisation du caroubier	15
III-2-1 Utilisation cosmétique	15
III-2-2 Utilisation agroalimentaire	15
III-2-3 utilisation médicale	15
III-2-4 utilisation chimique	16
III-2-5 Utilisation Pharmacologique	16
Chapitre III: Aspect Physiologique de la germination	
I Définition.....	17
II Physiologie de la germination.....	17
II-1 La première phase.....	17
II-2 La deuxième phase	17
II-3 La troisième phase.....	17
III Conditions de la germination	18
III-1 Les conditions intrinsèques	18
III-1-1 La maturité de la graine.....	18

III-1-2 La lumière	19
III-1-3 La dormance	19
III-2 Les conditions extrinsèques	19
III-2-1 L'eau	19
III-2-2 L'oxygène	19
III-2-3 Température	19
IV -Types de germination	20
V - Les paramètres de germination.....	21
V-1 Le pouvoir de germination	21
V-2 La capacité de germination.....	21
V-3 La vitesse de germination.....	21

Partie II :
Partie expérimentale
Chapitre I: Matériels et méthodes

I- Lieu de manipulation	22
II- Présentation de la zone de récolte des graines.....	22
III- Matériels utilisées.....	23
IV- Méthode d'étude	25
IV-1 Traitement des graines	25
IV-2 Répartition des graines.....	26
IV -3 Préparation des solutions.....	28
IV-3-1 Sulfate du Nickel.....	29
IV-4 Comptage et mesure des graines.....	30
IV-5 Les paramètres étudiés.....	30
IV-5-1 Paramètres de germination.....	30
IV-5-1-1Le taux final de germinations	30
IV-5-1-2 la vitesse de germinations	31
IV-5-2 mesure des paramètres de croissance	31
IV -6 Etude paramètre biochimique des graines	32
IV -6-1 Dosage des sucres solubles	33
IV-6-2 Dosage des Protéines solubles.....	35
IV -6-3 Dosage des Malondialdéhydes (MDA).....	36

IV -6-4 Dosage de la Catalase (cat).....	38
IV -6-5 Dosage des prolines	39
V- Traitements statistiques	41

Chapitre II :Résultats et discussion

II-1 Résultats	42
II-1-1 Effet de nickel sur les paramètres de germination	43
II-1-1-1 Effet de nickel sur le pourcentage final de germination des graines de <i>C.siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i>	43
II-1-1-2 Effet de nickel sur le temps final de germination des graines de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i>	44
II-1-2 Effet de nickel sur les paramètres biométriques	44
II-1-2-1 L'effet du nickel sur la taille de radicule des graines de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i>	44
II-1-2-2 L'effet du nickel sur la taille d'hpocotyle des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i>	45
II-1-2-3 Effet L'effet du nickel sur le poids frais des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i>	46
II-1-2-4 L'effet du nickel sur poids sec des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i>	47
II-1-3 Effet de nickel sur les paramètres biochimiques	48
II-1-3-1 Effet de nickel sur la tenue en sucre soluble des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i>	48
II-1-3-2 Effet de nickel sur la sur la tenue en protéine des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i>	49
II-1-3-3 Effet de nickel sur le sur la tenue en MDA des pousses de <i>C. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i>	50
II-1-3-4 Effet de nickel sur la sur la tenue en catalase des pousses de <i>c. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i>	51
II-1-3-5 Effet de nickel sur le sur la tenue en proline des pousses de <i>c. siliqua</i> et <i>A. cyanophylla</i>	52
II-2 Discussion	54

Conclusion.....	57
Références	59
Résumé	

Introduction

Introduction

Les métaux et les métalloïdes sont présents naturellement dans les sols. Cependant, l'essor de l'industrie (notamment les secteurs métallurgiques et chimiques) et de l'agriculture (utilisation de pesticides, d'engrais, etc.) depuis le siècle dernier a conduit à des apports souvent massifs de ces éléments, les transformant en agents polluants pour l'environnement. Même à de faibles concentrations, leur toxicité et leur tendance à s'accumuler dans les organismes vivants posent de sérieux risques pour la santé publique (**Sterckeman et al., 2008**).

Il est largement admis que la contamination par les métaux lourds (MLs) atteint des concentrations nettement plus élevées dans les cites urbanisées que dans les champs agricoles (**Ozdener et Kutbay, 2009**), généralement dans les zones industrielles. Cependant, dans la région méditerranéenne, l'utilisation excessive d'engrais et de produits agrochimiques a également contribué à accroître l'accumulation des MLs dans les sites agricoles, avec environ un quart des sols agricoles étant impropres pour la culture (**Maas et al., 2010**). Cependant, quantifier avec précision le seuil de tolérance aux MLs au cours de la première étape de développement des plantes destinées à être utilisées dans la réhabilitation des sols pollués peut déterminer le degré d'efficacité des projets de culture à grande échelle dans des sols dominés par des contaminants métalliques. Actuellement, il existe peu d'informations sur l'effet des MLs sur la germination des graines et la croissance initiale d'essences d'arbres à usage multiple (**Boi et al., 2023**). Par conséquent, cette étude actuelle identifie les effets phytotoxiques du Ni sur l'étape de développement précoce de deux plantes à intérêts majeurs (à savoir *Acacia cyanophylla* et *Ceratonia siliqua*).

Acacia cyanophylla (Lindl.), également connu sous le nom d'*Acacia saligna* (Labil.), appartient à la famille des Fabacées, est un arbuste légumineux originaire d'Australie occidentale, mais également présent dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Amérique du Sud et du Sahara (**Noumi, 2010**). Les composants les plus remarquables d'*A. cyanophylla* comprennent des tanins condensés, des polysaccharides, des flavonoïdes tels que la quercétine et le kaempférol, ainsi que d'autres flavonols et l'isosalipurposide (**El-Euch, 2000**).

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est l'une des cultures fruitières les plus importantes des pays méditerranéens, avec une production et une consommation en constante augmentation ces dernières années. Il est largement utilisé dans la fabrication de jus cuits appelés «pekmez» et de boissons en poudre. Cependant, la consommation directe du fruit entier est limitée en raison de son taux élevé de tanins, qui lui confère son astringence (**Bouhrem, 2019**). Cette

espèce est principalement cultivée dans la région du Tell et la région subsaharienne. Elle présente une grande tolérance au stress salin et à la sécheresse, et peut être cultivée sur tous les types de sols, à l'exception des sols humides. Occupant une aire de répartition très étendue en Algérie, cette espèce montre sans aucun doute une grande diversité morphologique (**Berrabah, 2020**).

La germination est une phase de transition où la graine, initialement en état de dormance, montre une reprise des processus de multiplication et d'allongement cellulaire (**Deysson, 1967**). Cette phase est désormais la plus vulnérable dans le cycle de développement des plantes (**Aljasmî et al., 2021**), et donc la plus sensible aux stress abiotiques, notamment la pollution métallique (**Moreira et al., 2020**). Dans ce contexte, la capacité des graines à germer dans un environnement soumis à un stress métallique pourrait être un indicateur fiable de la tolérance des plantes à la contamination par les MLs et, par conséquent, de leur utilisation potentielle dans la restauration/récupération des sols pollués (**Canu et al. 2022**).

De nombreuses études ont rapporté que le stress induit par les MLs affecte négativement la germination des graines et l'émergence des plantules de diverses plantes telles que *Pinus sylvestris* (**Makhniova et al. 2019**) et *Peganum harmala* (**Nedjimi 2020**). Cependant, les informations concernant l'impact du stress métallique sur la dynamique de germination d'*A. cyanophylla* et *C. siliqua* sont absents. Nous avons donc examiné l'impact du nickel (Ni), un élément métallique très répandu dans les sols du bassin Méditerranéen, sur la germination des graines d'*A. cyanophylla* et de *C. siliqua*. De plus, des analyses ont été effectuées sur plusieurs paramètres biochimiques et enzymatiques des pousses de plusieurs jours, notamment la proline, les protéines solubles, les sucres solubles, le malondialdéhyde et la catalase.

Notre travail comporte deux grandes parties:

- ❖ **Une partie théorique** (synthèse bibliographique) qui est composée de trois chapitres:
 - ✓ Le premier chapitre: les métaux lourds et la phytoremédiation
 - ✓ Le deuxième chapitre: généralité sur les espèces (*Acacia cyanophylla* et *Ceratonia siliqua*)
 - ✓ Le troisième chapitre: Aspect physiologique de la germination
- ❖ **Une partie expérimentale** qui est subdivisée en deux chapitres
 - ✓ le premier chapitre présent : La méthodologie adoptée pour la préparation et la caractérisation des matériaux utilisés est détaillée, tandis que la dernière partie de ce chapitre présente les procédures expérimentales employées pour l'étude.

- ✓ Le dernier chapitre présent : les résultats obtenus ainsi que leur discussion concernant l'étude.

Ce mémoire est achevé par une conclusion générale.

Partie I :

Synthèse bibliographique

Chapitres I :

Les métaux lourds et la phytorémediation

I- Les métaux lourds

I-1 Définition

D'un point de vue chimique, les éléments de la classification périodique formant des actions en solutions sont des métaux (**Braiech et Bousnina, 2019**).

D'un point de vue physique, le terme métaux lourds désigne les éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes (environ 65 éléments), caractérisés par une forte masse volumique supérieure à 5 g/cm³ (**Adriano, 2001**).

D'un autre point de vue biologique, on en distingue deux types en fonction de leurs effets physiologique et toxique : métaux essentiels et métaux toxiques. Ceux-ci sont présents le plus souvent dans l'environnement sous forme de traces: mercure (Hg), plomb (Pb), cadmium (Cd), cuivre (Cu), arsenic (As), nickel (Ni), zinc (Zn), cobalt (Co), manganèse (Mn) etc. (**Arris, 2008**).

I-2 Classification des métaux lourds

Les métaux lourds se trouvent dans les différents éléments de l'environnement, mais en général, leur présence est minime. On affirme que ces métaux sont présents à l'état de traces, ce qui permet de les identifier distinctement :

I-2-1 Les métaux essentiels : sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques (**Loue, 1993**). Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas du cuivre (Cu), du zinc (Zn) et du fer (Fe). Par exemple, le Zn, à la concentration du milli molaire, est un oligo-élément qui intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques (déshydrogénases, protéinase, peptidase) et joue un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides. (**Kabata-Pendias et Pendias, 2001**).

I-2-2 Les métaux toxiques : Ont un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg) et du cadmium (Cd) (**Behanzin et al., 2015**).

I-3 Origine des métaux lourds

I-3-1 Les sources naturels : Les métaux lourds sont présents naturellement dans les roches, ils sont libérés lors de l'altération de celles-ci pour constituer le fond géochimique (**Bourelle et Berthelin, 1998**).

Parmi les importantes sources naturelles, citons l'activité volcanique, l'altération des continents et les incendies de forêts. La contribution des volcans peut se présenter sous forme d'émissions volumineuses dues à une activité explosive, ou d'émissions continues de faible volume, résultant notamment de l'activité géothermique et du dégazage du magma (**Afnor, 1988**).

I-3-2 Les sources anthropiques : Les métaux provenant d'apports anthropiques sont présents sous des formes chimiques assez réactives et entraînent de ce fait des risques très supérieurs aux métaux d'origine naturelle qui sont le plus souvent immobilisés sous des formes relativement inertes (**Figure 1**) (**Weiss et al., 1999**).

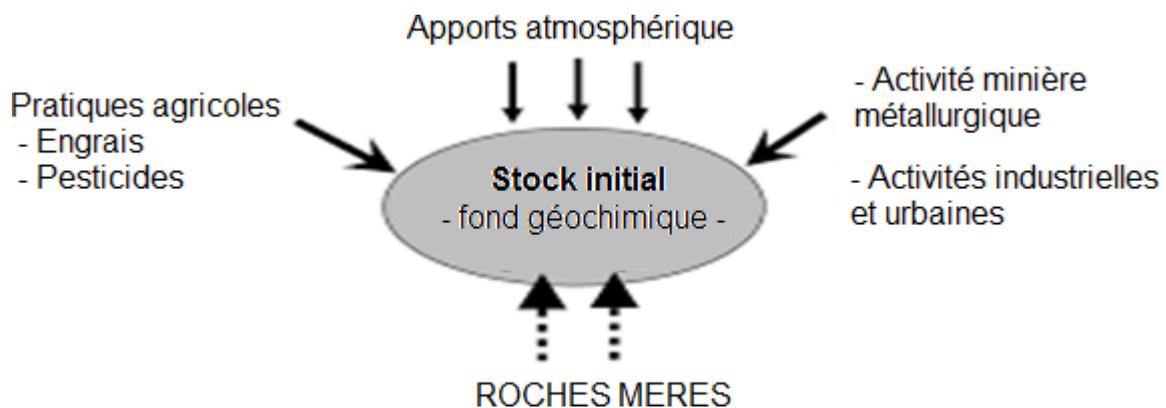


Figure 01 : Origine des métaux lourds (**Robert et Juste, 1999**).

I- 4 La pollution par les métaux lourds

I-4-1 Contamination de l'environnement

Les métaux lourds sont dangereux pour l'environnement car, ils ne sont pas dégradables. Ils s'accumulent au cours de processus minéraux et biologiques. Les métaux lourds peuvent

également être absorbés directement par le biais de la chaîne alimentaire entraînant alors des effets chroniques ou aigus (**Hamadacheal., 2016**).

I-4-2 Contamination des sols

Le sol est un support de nombreuses activités humaines (industrialisation, urbanisation, agriculture), son rôle clef en matière d'environnement a été reconnu récemment : il intervient comme réacteur, récepteur, accumulateur et filtre des pollutions (**Robertet Juste, 1999**).

Le sol, comparativement à l'air et à l'eau, est le milieu qui reçoit les plus grandes quantités d'éléments en traces produites par les activités industrielles et constitue un lieu réceptacle des métaux lourds (**Fig. 02**).

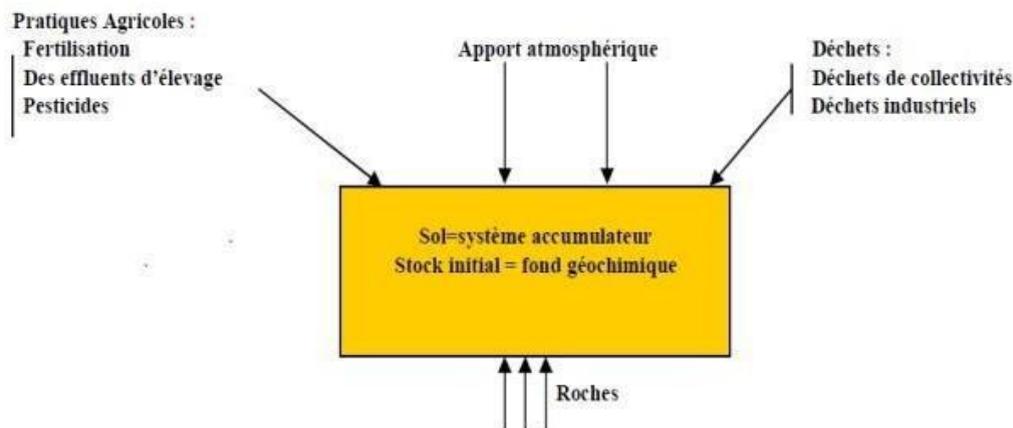


Figure 02 : Origine des éléments traces métalliques dans le sol. **Académie des sciences (1998)**.

Deux principaux types de pollutions anthropiques sont responsables de l'augmentation des flux de métaux : la pollution atmosphérique (rejets urbains et industriels) et la pollution liée aux activités agricoles.

Les conditions physico-chimiques de la majorité des sols cultivés (milieu oxydant, pH élevé, richesse en argile) sont propices à la fixation des métaux lourds dans les parties supérieures du sol liés à la fraction fine. Il y a donc un risque important d'entraînement, par ruissellement, particulièrement en cas d'orage sur un sol nu et pentu. En général, les sols argilo-limoneux fixent les métaux par adsorption ce qui n'est pas le cas pour les sols sablonneux (**Kabata- Pendias et Pendias, 1992**). Le pH joue également un rôle, lors du chaulage, le pH augmente et réduit la mobilité des métaux lourds (**Chapman, 1978**).

II - La phytoremédiation

II-1 Définition

Le terme phytoremédiation vient du préfixe grec « phyto » (plante) et du mot latin *remedium* (pour corriger ou éliminer un mal) (Ghosh et sing, 2005). La phytoremédiation ou la bioremédiation est une nouvelle technologie qui utilise les plantes vertes et/ou des microorganismes associés (ex. bactéries, champignons) pour le nettoyage d'un environnement pollué par les métaux lourds et les métalloïdes (Smits et Freeman, 2006 ; Lamb et al., 2010).

II-2 Technique de la phytoremédiation

La phytoremédiation regroupe différentes méthodes qui sont appliquées selon la contamination et les objectifs de remédiation (Brooks, 1998 ; Bert et al., 2000), qui peuvent mener à la dégradation du contaminant, enlèvement (par accumulation ou dissipation), ou immobilisation. Actuellement, la phytoremédiation se divise en cinq domaines d'application différents : phytoextraction, phytotransformation, rhizodégradation, phytostabilisation et phytovolatilisation (Pulford et Watson, 2003 ; Vavasseur et al., 2003).

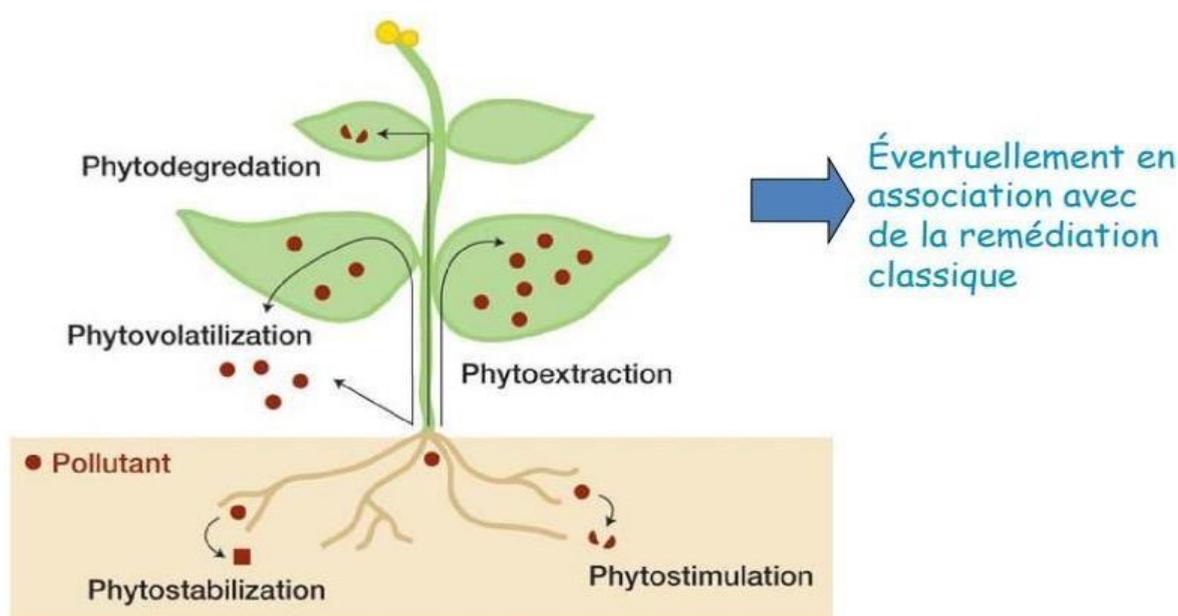


Figure 03 : les domaines d'application de la phytoremédiation (Moussavou, 2010)

II-2-1 Phytoextraction :

La phytoextraction est la méthode de plantation d'espèces connues pour accumuler des quantités maximales de polluants (plus de 0,1 % de la masse sèche) dans leurs parties aériennes. Les critères de sélection de ces plantes peuvent se baser sur le degré de translocation du contaminant des racines vers les parties aériennes (**Susarlaal.,2002**). Cette stratégie peut être divisée en deux méthodes : la phytoextraction continue et la phytoextraction induite. La phytoextraction continue utilise des plantes endémiques ayant la capacité naturelle d'accumuler des teneurs élevées en métaux lourds (hyper accumulateurs). La phytoextraction induite améliore l'accumulation des métaux par l'ajout de substances chimiques telles que les chélates (**McGrath et al., 2002**).

II-2-2 Phytodégradation ou phytotransformation

La phytodégradation ou phytotransformation est la dégradation des polluants assimilés par les plantes grâce à des processus métaboliques, ou la dégradation des polluants à l'extérieur de la plante grâce à des enzymes produites par les racines (comme les déhalogénases, les nitroréductases et les peroxydases) (**Schenooral.,1995**). À travers cette méthode, les plantes sont capables de transformer les polluants en composants non dangereux (**Nedjimi, 2021**). Certaines plantes peuvent créer les meilleurs environnements pour le développement et la dégradation des toxines par l'association de bactéries et de mycorhizes.

II-2-3 Phytovolatilisation

La phytovolatilisation est le processus d'absorption des polluants et de leur conversion en formes volatiles moins nocives. Dans cette méthode, les polluants sont assimilés par les racines, transloqués vers la partie aérienne de la plante et volatilisés dans l'atmosphère par le biais des stomates des feuilles (**Tollsten et al., 1996**)

II-2-4 Rhizo-filtration

La rhizo-filtration est une technique visant à éliminer les polluants de l'eau et des déchets liquides par la précipitation des toxines sur les racines de surface ou l'absorption des polluants solubles dans les racines (**Dushenkov et al., 1995**). Le système racinaire fibreux et les grandes surfaces racinaires jouent un rôle significatif dans cette technique. Les plantes capables d'absorber une grande quantité d'eau du sol sont appropriées à cette fin (**Susarla et al.,2002**)

II-2-5 Phyto-stabilization

Dans cette stratégie, les polluants sont stockés par les racines des plantes ou précipités par les exsudats racinaires (**Peer et al., 2005**). Ainsi, cette méthode diminue le déplacement des polluants et évite leur migration vers les eaux souterraines.

Cependant, la profondeur des racines varie significativement en fonction de l'espèce végétale, de l'humidité, de la texture du sol, des encroûtements calcaires, des conditions sèches et des amendements du sol.

II-3 Les espèces phytoremédiantes :

Ces espèces sont des métallophytes et appartiennent à la végétation naturelle des sols riches en métaux (**Ernst, 2000**).

La sélection des espèces des plantes pour la phytoremédiation est basée sur leur potentiel d'évapotranspirer les eaux souterraines, les enzymes dégradative, leurs taux de croissance et de rendement, la profondeur de leur racines, et leur capacité de bioaccumuler des contaminants (**Ernst, 2000 ; Glass, 2000**).

Les familles végétales qui dominent dans les accumulateurs et hyper accumulateurs de métaux, sont: Astéracée, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Cunouniaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Lamiaceae, Poaceae, Violaceae et Euphobiaceae, et les hyper accumulatrices de métaux que sont les Brassicaceae présentent plus le nombre de taxons, soit 11 genres et 87 espèces (**Prasad et Frietas, 2003**).

Les plantes envisagées pour la dépollution doivent avoir une croissance rapide (**Meagher et Heaton, 2005**), un système racinaire et foliaire développé. Elles doivent aussi développer un système racinaire extensif. Explorant la zone de sol polluée (**Kramer, 2005**), et accumuler les éléments traces dans leurs tissus aériens sans avoir développé des symptômes de toxicité (**Baker et Brooks, 1989**).

Chapitre II :

Généralité sur les espèces

I- Caractères généraux de la famille des Fabacées

La famille des Fabacées, également connue sous le nom de Légumineuses, est un groupe de plantes unifié par leur fruit, la gousse ou le légume. Ces plantes se présentent souvent sous forme d'arbres ou d'arbustes, parfois épineux, avec des feuilles alternes, composées et bipennées. Les pétioles sont épaissis à la base et parfois munis de glandes, et les stipules peuvent se développer en épines. Les fleurs sont petites, cycliques, et présentent diverses caractéristiques telles que la zygomorphie et la polystémie. Les pétales ont une préfloraison valvaire et les filets sont généralement longs et colorés. Cette famille se distingue par son ovaire formé d'un seul carpelle, qui se développe en une gousse ou un légume. En général, la gousse est allongée et dépasse souvent du calice persistant à sa base, avec une forme légèrement aplatie dans le plan dorso-ventral (Chouia, 2019).

II- *Acacia cyanophylla*

Acacia cyanophylla (Lindl) (figure 4) est une plante annuelle aromatique, communément connue aussi sous le nom d'*Acacia saligna* (Labill). Originaire d'Australie occidentale, cette légumineuse arbustive se retrouve également dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Amérique du Sud, ainsi que dans le Sahara (Noumi, 2010). Cette plante ayant une hauteur moyenne de 4 à 5 m et pouvant atteindre 7 à 8 m. Les fleurs sont jaunes et la floraison abondante mais brève (environ 10 jours) qui aura lieu en Avril-Mai dans le bassin méditerranéen. Le feuillage est constitué de feuilles très polymorphes de couleur bleu glauque (Ben Salem et al., 2005).

La tige est généralement très ramifiée. L'écorce de l'*Acacia* est lisse, de couleur grise verdâtre, tachée de gris dans le jeune âge. Les racines présentent une importante nodosité fixatrice d'azote (El-Euch, 2000).

II-1 Terminologie et taxonomie :

II-1-1 Terminologie :

Le nom commun de l'espace *Acacia cyanophylla* dans différents pays est *Acacia* bleu (Maroc), *Acacia saligna* (Italie), *Acacia azulada* ou *azul* (Espagne), *Mimosa* orange ou *bleuâtre* (France), *Orange wattle* (Anglais) (Léger, 2007). Le nom scientifique *Acacia cyanophylla* (Lindl), synonyme ; *Acacia saligna* (Labill).



Figure4 : *Acacia cyanophylla* (vue générale)

II-1-2 Taxonomie :

L'espèce *Acacia cyanophylla* est classée dans la famille des Fabacées (Spichiger et al., 2002) :

Tableau 01 : Classification systématique de l'espèce *Acacia cyanophylla*

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous/Classe :	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
S/Famille :	<i>Mimosoideae</i>

Genre	<i>Acacia</i>
Espèce	<i>Acacia cyanophylla</i>

II-2-Intérêts et applications de l'acacia :

II-2-1 Intérêt écologique

Les Acacias jouent un rôle crucial dans la protection des sols contre l'érosion, la formation des dunes et la désertification en raison de leur capacité à coloniser les zones dégradées.

- ***Protection contre l'érosion, la désertification et la déforestation***

La plantation d'acacias en tant que brise-vent et rideaux-abris est une solution efficace pour stabiliser les sols contre l'érosion éolienne et hydrique. Leur système racinaire pivotant et dense capte l'eau de pluie même en cas de faibles précipitations, améliorant ainsi la couverture du sol et enrichissant la matière organique, notamment dans les zones montagneuses sujettes à l'érosion par ravinement. De plus, les acacias réduisent le flux de solides, régulent les écoulements et améliorent la productivité agricole ou forestière dans les bas-fonds (Benbrahim et al., 2014).

- ***Maintien et restauration de la fertilité des sols***

Les acacias, avec leurs racines développées, puisent efficacement dans les ressources du sol, tandis que leur litière en décomposition améliore la fertilité du sol en redistribuant les nutriments vers la surface. Ils sont essentiels pour améliorer les rendements agricoles et forestiers, lutter contre la dégradation environnementale et maintenir la fertilité des sols (Benbrahim et al., 2014).

II-2-2 Intérêt agroforestier

Les systèmes d'agroforesterie offrent une régénération des sols plus rapide et durable que les rotations culturales traditionnelles avec des arbres et des arbustes. Pour lutter contre l'érosion, favoriser la fixation d'azote et promouvoir un recyclage efficace des éléments nutritifs, il est essentiel de choisir une espèce agroforestière adaptée, robuste et non envahissante. Cela enrichit le sol en azote fixé, améliorant ainsi sa fertilité et la productivité globale du système (Benbrahim et al., 2014).

II-2-3 Intérêt fourrager

Les acacias sont couramment utilisés comme fourrage dans les régions arides, avec les gousses, jeunes tiges et feuilles consommées par les moutons et le bétail. Cependant, leur consommation directe est limitée en raison de substances toxiques et antinutritives. Pour remédier à cela, l'ajout de sources d'azote telles que l'urée ou l'ammoniaque est nécessaire, ou bien les acacias peuvent être associés à d'autres arbustes fourragers comme l'*Atriplex nummularia*, sous forme d'ensilage (Benbrahim et al., 2014).

II-2-4 Intérêt pharmaceutique et cosmétique

Les feuilles, brindilles et écorces d'une trentaine d'espèces d'acacias sont largement utilisées à des fins thérapeutiques. Des études récentes ont prouvé les propriétés antioxydants, anti-hyperglycémiques et antiulcéreuses des extraits de certains acacias. Ces plantes contiennent des molécules bioactives avec des effets antihypertensifs, antispasmodiques, anti-inflammatoires, vasoconstricteurs et anti-agglutinants plaquettaires. En cosmétique, les fleurs d'Acacia sont utilisées pour produire des parfums caractérisés par leur odeur douce, comme les fleurs d'*A. farnesiana* au Mexique. De plus, l'essence obtenue à partir de la fleur délicate d'*A. dealbata* est utilisée pour modifier les accords floraux basés sur la rose et le jasmin (Benbrahim et al., 2014).

III- Le Caroubier

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) (Figure 5) appartient à la famille des légumineuses (Fabacées) de l'ordre des Rosales, de la sous-famille des césalpiniciées. C'est un arbre de croissance lente, d'une longévité importante dépassant souvent les 200 ans (Battle & Tous, 1997; Yousif et Alghzawi, 2000; Rejeb et al., 1995). Il est couramment cultivé dans les régions méditerranéennes pour ses usages décoratifs et industriels. Son entretien est minimal. (El Hajaji, 2010).

III-1 Terminologie et taxonomie**III-1-1 terminologie commune**

Le nom commun de l'espèce est *C. siliqua* L. dans différents pays et langues provient généralement du nom arabe (Al Kharroub ou kharroub), comme c'est le cas pour l'Algarrobo ou le Garrofero en espagnol (Albanell, 1990). Le fruit de l'Algarrobo, connu sous le nom

d'Algarroba ou de Garrofa, et sa graine, connue sous le nom de Garrotín, adoptent, dans chaque pays et langue, des terminologies dérivées du nom correspondant de l'arbre (Albanell, 1990). Noms communs : Caroubier (le), Carouge, Pain de saint Jean-Baptiste, figuier d'Égypte, fève de Pythagore (en Français), alkharro^l) akharoub) en arabe, tislighwa en tamazight (emprunt au latin *siliqua*), Haroub en Hébreu (Carob, Saint John's bread, locust tree (Anglais). Graine : caroube (Français).



Figure 5 : Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) (vue générale)

III-1-2 La taxonomie.

L'espèce *Ceratonia siliqua* L. est classée dans la famille des Fabacées selon (Quezel et Santa 1963):

Tableau 02 : Classification systématique de l'espèce *Ceratonia siliqua* (L)

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Tracheobionta</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>

Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Sous-famille	<i>Césalpinoïdæ</i>
Genre	<i>Ceratonia</i>
Espèce	<i>Ceratonia siliqua L.</i>

III-2 utilisation du caroubier

III-2-1 Utilisation cosmétique

La gomme de caroube est largement utilisée dans l'industrie cosmétique pour ses propriétés épaississantes, émulsifiantes et stabilisantes. Elle permet de former des solutions très visqueuses à faible concentration, ce qui en fait un ingrédient précieux dans la fabrication de savons, crème et dentifrices. (Roukas, 1998; Roukas, 1993).

III-2-2 Utilisation agroalimentaire

Les gousses de caroube sont utilisées depuis longtemps comme matière première pour la production d'additifs alimentaires (Biner et al., 2007). La gomme de caroube, identifiée sous le code E-410, est fréquemment employée dans l'industrie agroalimentaire pour ses propriétés épaississantes, stabilisantes, liantes et gélifiantes, ainsi que comme agent dispersant. En dehors de cela, elle trouve également des applications dans des domaines tels que l'impression, la photographie, le textile, la pharmacie et la cosmétique (Batlle et Tous, 1997). Dans les régions méditerranéennes, la farine obtenue à partir de gousses moulues est couramment employée en remplacement du cacao dans la fabrication de confiseries, de biscuits, de produits transformés et même dans la production de boissons (Ayaz et al., 2009).

III-2-3 utilisation médicale

Le caroubier est reconnu comme un remède naturel recommandé pour soulager divers troubles digestifs tels que les reflux gastriques fréquents, l'irritation du côlon, les vomissements persistants, l'acidité gastrique, la stéatorrhée (un terme médical pour décrire un excès de graisse dans les selles), les hémorroïdes, l'anémie et les carences nutritionnelles (Ayaz et al., 2009). Des recherches scientifiques ont prouvé que cette plante médicinale peut traiter les problèmes liés au surpoids et à l'obésité en inhibant des enzymes digestives grâce à sa richesse en tannins, tout en

procurant une sensation de satiété (**Kawamura, 2008**).

III-2-4 utilisation chimique

Certains travaux ont déjà montré l'application de la farine de caroube (gousses broyées) pour l'extraction du sucre, la fermentation de l'éthanol (**Roukas, 1993; Roukas, 1996**), et la production d'acide citrique (**Roukas, 1998; Roukas, 1999**) Le bois du caroubier appelé «carouge» est dur à grain fin; il est utilisé pour la fabrication d'ustensiles et la production de combustible et du charbon et l'écorce (**Battle et Tous, 1997**).

III-2-5 Utilisation Pharmacologique

Actuellement, la caroube est considérée comme une plante d'investigation de nouveaux antioxydants naturels contenus dans l'enveloppe de la graine et la pulpe du fruit. Cette activité antioxydante est attribuée à la présence de composés phénoliques et fibres (**Custódio, 2011**).

Chapitre III :

Aspect Physiologique de la germination

I- Définition

La germination se définit comme « le phénomène par lequel l'embryon croît en utilisant les réserves de la graine ».

La vie individualisée des graines commence dès que celle-ci est séparée de la plante qui lui a donnée naissance, et se termine par la germination (**Binnet, 1978**).

La germination est un processus dont les limites sont le début de l'hydratation de la semence et tout le début de la croissance de la racicule (**Evenari, 1957**).

Conformément aux propos de **Mazliak (1982)**, La germination d'une semence est terminée quand la racicule perce les enveloppes ou, s'il s'agit d'un embryon isolé, dès que la racicule commence à s'allonger.

II- Physiologie de la germination

La **figure 06** illustre trois phases :

II-1 La première phase

C'est la phase d'imbibition de la graine, qui se traduit par une augmentation régulière et importante de l'activité respiratoire (**Come, 1970; Mazliak, 1982**). Elle implique un mouvement d'eau dans le sens de potentiel hydrique décroissant (**Hopkins, 2003**).

II-2 La deuxième phase

C'est la germination *sensu stricto*, elle est marquée par un arrêt de l'absorption de l'eau et une activité respiratoire régulière (**Mazliak, 1982**). Les synthèses protéiques sont facilitées car la graine renferme toute la machinerie nécessaire, en particulier des ARNm y sont accumulés (**Rajjou et al., 2004**).

II-3 La troisième phase

Elle est caractérisée par une reprise de l'absorption de l'eau et une activité respiratoire de plus en plus importante due au développement de la racicule (**Mazliak, 1982**).

Cette phase se traduit par une activité enzymatique et une augmentation des taux de respiration et d'assimilation qui sont l'indice d'utilisation des éléments nutritifs mis en réserve, et leur transfert vers les zones de croissance .

Durant cette dernière phase, un changement irréversible se produit dans l'embryon, l'arrêt de la germination provoque la mort de l'embryon (Toth, 1978).

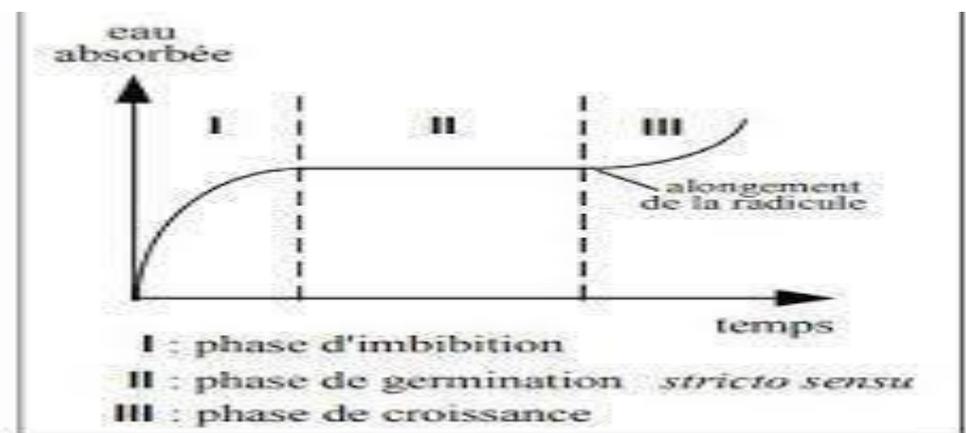


Figure 6 : Courbe théorique d'imbibition d'une semence (d'après Côme, 1982).

III- Conditions de la germination

L'exécution de la germination ne peut avoir lieu que lorsque certaines conditions spécifiques sont remplies, les unes intrinsèques et liées à l'état de la semence, les autres extrinsèques et en rapport avec le milieu ambiant (Guyot, 1978).

III-1 Les conditions intrinsèques

III-1-1 La maturité de la graine

Il y a deux phases identifiables dans le processus de maturation de la graine sont :

- **La maturation morphologique :** Elle correspond à la mise en place des éléments constitutifs de la graine. En général la graine ne peut pas encore germer après cette maturation (Mihoub et al. 2005).
- **La maturation physiologique :** Elle se manifeste par l'intervention de changements indispensables à la germination (Mihoub et al. 2005).

III-1-2 La lumière

D'après **Heller et al. (1990)**, 70 % des graines ont une photosensibilité positive, 25% sont à photosensibilité négative et 5% sont indifférentes.

III-1-3 La dormance

Dans cette situation les inaptitudes à la germination résident dans l'embryon et constituent les véritables dormances (**Chaussat et al, 1975**).

III-2 Les conditions extrinsèques

La graine exige la présence de différents éléments de l'environnement tels que l'eau, la température, l'oxygène, et parfois la lumière contrôlent d'une précise, la germination. L'analyse de l'un de ces facteurs ne peut pas faire abstraction des autres, car ils interfèrent tous (**Hopkins, 2003**).

III-2-1 L'eau

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

III-2-2 L'oxygène

D'après **Soltner (2007)**, La germination exige obligatoirement de l'oxygène. Une faible quantité d'oxygène peut être suffisante pour permettre la germination (**Mazliak, 1982**).

Selon **Meyer et al. (2004)**, l'oxygène est contrôlé par les enveloppes qui constituent une barrière, mais en même temps une réserve (**Figure 7**).

III-2-3 Température

Selon **Lafon et al. (1998)** la température stimule les activités enzymatiques et ainsi la vitesse de germination. La température règle l'apport de l'oxygène à l'embryon, ainsi quand la température s'élève, le métabolisme réclame plus d'oxygène, son apport diminue rendent la germination impossible (**Heller et al., 2004**).

IV- Types de germination

Les plantes peuvent être classifiées en trois types de germination, basés essentiellement sur la position prise par les cotylédons après la germination (**Rakouth** cité par **Some, 1991**):

- La germination épigée ou phanérocotylaire.
- La germination semi-hypogée.
- La germination hypogée ou cryptocotylaire.

Certains auteurs, tels que **De la Mensbrug(1966)** identifient deux types fondamentaux qui sont : la germination épigée et hypogée, assimilant la germination semi-hypogée à une germination épigée (**Figure 8**).

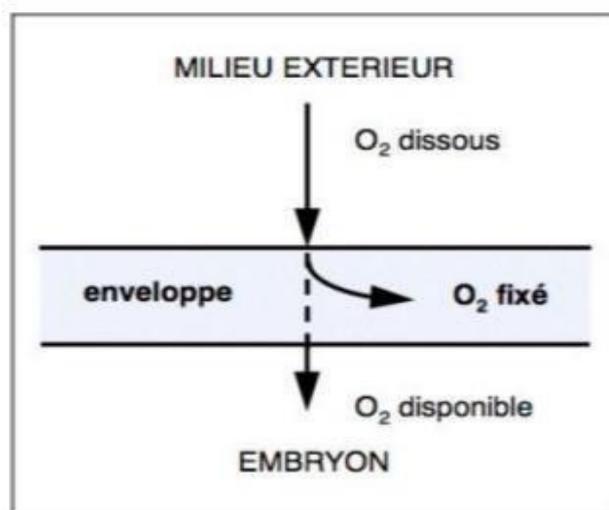


Figure 7 : Schéma du mécanisme de l'apport d'oxygène à l'embryon, à travers les enveloppes séminales imbibées qui renferment des composés phénoliques. (**Côme, 1967**)

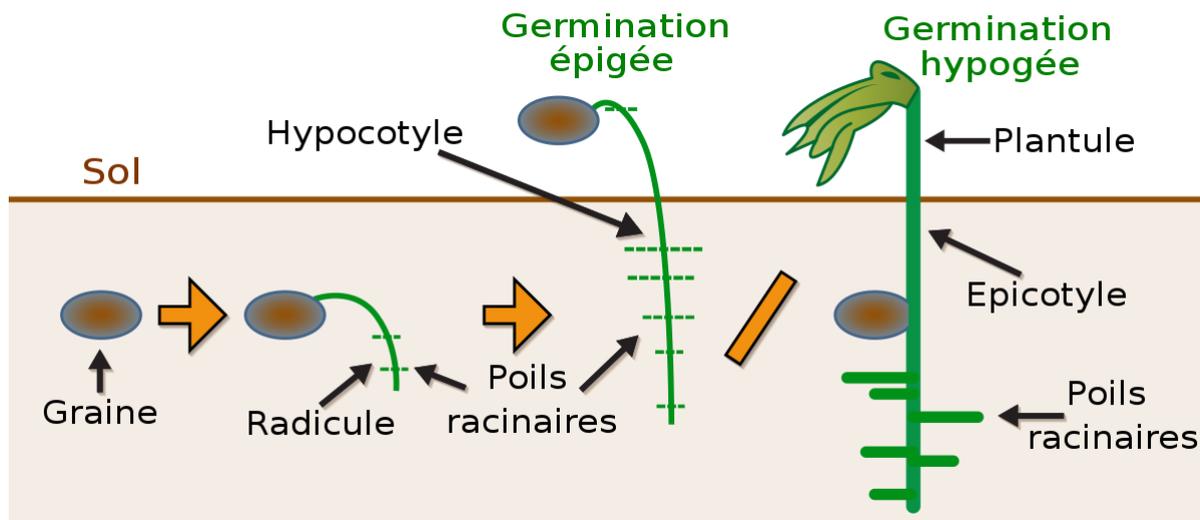


Figure 8 : la différence entre la germination épigée et hypogée (kumar, 2015).

V - Les paramètres de germination

On distingue trois paramètres essentiels :

V -1 Le pouvoir de germination

C'est le pourcentage des semences capables de germer dans les conditions les plus Favorables.

V -2 La capacité de germination

C'est le pourcentage maximal de semences germées dans des conditions données. Il est donc indispensable de préciser les conditions exactes dans lesquelles les semences sont mises à germer (Côme, 1970).

V -3 La vitesse de germination

C'est le temps nécessaire mis par les semences germées, pour obtenir 50% de la capacité germinative (Lang, 1965), elle est calculée par l'indice de germination (Abbot, 1955 inMazliak,1982).

Partie II :

Etude expérimentale

Chapitre I :

Matériels et méthodes

I- Lieu de manipulation :

Cette expérimentation a été réalisée au niveau de laboratoire de recherche en écologie et environnement au sein de l'Université de Bejaia, pour étudier l'effet de nickel sur la réponse germinative et l'expression biométrique et biochimique des pousses de l'*Acacia cyanophylla* et de *Ceratonia siliqua*.



Figure 9 : Site expérimental de l'université. Abderrahmane Mira à Bejaia

II- Présentation de la zone de récolte des graines

Les graines examinées dans cette étude sont celles de l'acacia ainsi que celles du caroubier. L'origine des graines de l'acacia est de la ville de Bejaïa (nord-est del'Algérie), qui ont été récoltées en 2021 à l'Université de Bejaia (campus Targa-Ouzamour).

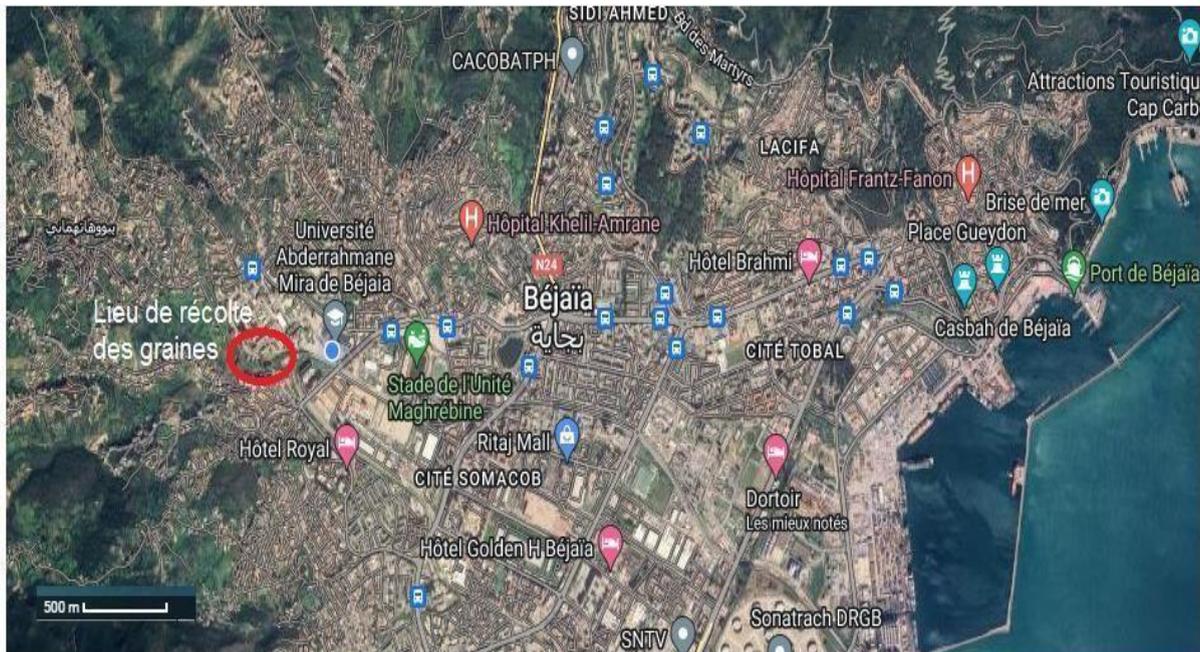


Figure 10: lieu de récolte des graines d'*Acacia cyanophylla* (Google Map , 2024)

Les graines de caroubier sont d'origine du Village Bou Mraou à Amizour Wilaya de Béjaïa, récoltées en mois d'Aout 2023.

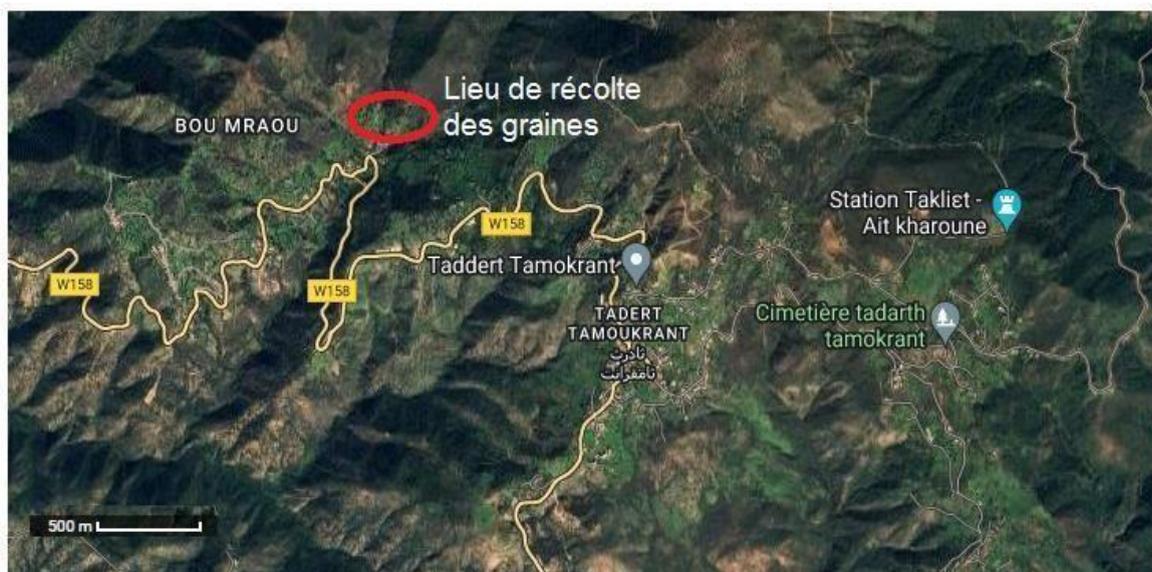


Figure 11: lieu de récolte des graines de *Ceratonia siliqua* (Google Map , 2023)

III- Matériels utilisés

- L'eau distillée
- Boîtes de Pétries
- Passoire, une pince, ciseaux, bouteilles d'eau de 0.5 L.

- Papier absorbant
- Micropipettes
- Etiquettes
- Les tubes en plastique
- Les tubes d'Eppendorf
- Mortier
- Tube à essai
- Parafilm (pour la fermeture des boîtes)
- Les cuves en quartz et en verre
- **Matériels biologiques :**
 - Les grains de *A. cyanophylla*.
 - Les grains de *C. siliqua* (caroubier).
- **Les appareils :**
 - Etuve
 - Spectrophotomètre
 - Centrifugeuse
 - Vortex
 - Une balance
 - Un bain marie
 - La plaque chauffante agitatrice
 - La hotte
 - Four
- **Les indicateurs chimiques :**
 - Les solutions utilisées : TBA 0.5%, TCA 1%, solution Bradford, tris-HCl PH=8.1, solution d'anthrone, éthanol 80% et solution de ninhydrine .

IV- Méthode d'étude

IV-1 Traitement des graines :

Avant de faire germer les graines, nous avons réalisé un processus de scarification pour lever la dormance physique induite par la coriacité de l'enveloppe tégumentaire.

- Mettre les graines de l'acacia et celles de caroubier (**figure 12**) dans l'acide sulfurique (H_2SO_4) pendant 50 minutes, en les agitant toutes les cinq minutes.



Figure 12 : les graines dans l'acide sulfurique (H_2SO_4)

- Effectuer un premier rinçage, de 5 fois pour l'acacia et de 8 fois pour le caroubier pour éliminer toute trace d'acide.
- Effectuer un deuxième rinçage, en utilisant de l'eau distillée et deux gouttes de l'eau de javel, afin d'éliminer complètement les agents pathogènes.
- Laissez les graines sécher pendant 10 minutes à l'aide d'un papier absorbant (**figure 13**).



Figure 13 : Les graines de caroubier (à gauche) et d'acacia (à droite) après rinçage et désinfection.

IV-2 Répartition des graines :

- Nous avons préparé un total de 36 boîtes de culture ; 15 destinées à l'acacia, 15 pour le caroubier, et 6 utilisées à titre de témoins (**figure 14**).



Figure 14 : préparations des boîtes pétrie et mise en place les graines de l'*Acacia cyanophylla* et *Ceratonia siliqua*

- Les boîtes ont été étiquetées, avec chaque espèce comprenant 15 boîtes contenant cinq concentrations différentes de nickel (200,400, 600, 800, et 1000 ppm), nous les avons réparti en 3 lots L1, L2, L3 (**figure 15**). Six autres boîtes de Pétri ont été laissées comme témoins, sans ajout de nickel (imbibées avec de l'eau distillée) (trois pour l'acacia et 3 pour le caroubier).



Figure 15 : Les boites étiquetées

- Les graines sont placées dans des boîtes de Pétri propres, avec un morceau de papier absorbant posé sur la surface de chaque boîte. Chaque boîte contient 18 graines (**figure 16**).
- Imbiber les graines avec une solution de sulfate du nickel (environ 15ml par boîte).



Figure 16: imbibition des graines

- Fermer les boîtes avec un parafilm et les mettre dans une Etuve régler à la température de 20°C pendant 16 jours.



Figure 17: boîtes pétrie mise en place dans une étuve réglée à 20 °

IV-3 Préparation des solutions :

Préparation des solutions de métaux lourds, dans notre cas le nickel, en utilisant la forme solide (S) de ce métal disponible dans le laboratoire.

Pour cette étude, nous avons préparé des niveaux de concentration variés 200, 400, 600, 800 et 1000 ppm. En utilisant une balance analytique (**figure 18**), le pesage doit suivre la loi suivante :

$$1 \text{ ppm} = 1\text{mg}/1000\text{mL}.$$



Figure18 : Balance magnétique (0.1mg)

Cinq solutions ont été préparées, avec chaque bouteille contenant 200 ml d'eau distillée à laquelle une quantité de sulfate du nickel a été ajoutée.



Figure 19 : les solutions utilisées.

Pour les concentrations :

Tableau 03 : La masse de Ni pour chaque concentration 1 ppm = 1mg / 1000ml

	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1000 ppm
NiSO ₄ (mg.200 ml-1)	40	80	120	160	200

IV-3-1 Sulfate du Nickel :

Le sulfate de nickel est un composé inorganique de formule chimique NiSO₄ sous forme anhydre. Ce composé bleu très soluble dans l'eau est une source d'ions Ni²⁺ en particulier pour l'électroplacage.



Figure 20 : Sulfate du nickel

IV-4 Comptage et mesure des graines

Durant 16 jours de germination nous avons fait un comptage chaque 48 heures pour dénombrer les graines germées.

IV- 5 Les paramètres étudiés

IV-5-1 Paramètres de germination :

Pour exprimer la germination des graines, nous avons utilisé les paramètres suivants :

- le taux final de graines germées (TFG) ou capacité de germination exprimé en %.
- la vitesse de germination, exprimée en temps moyen de germination (TMG) évaluée en jours.

IV -5-1-1 Le taux final de germination

La germination est évaluée en effectuant un décompte toutes les 48 heures pendant une période de 16 jours, Le pourcentage de graines germées est calculé : en divisant le nombre de plantules normales (germées) par le nombre total de graines incubées.

$$G(\%) = 100 * NGG / NTG$$

G (%) = Pourcentage de germination.

NGG = Nombre des graines germées.

NTG = Nombre totale des graines.

IV -5-1-2 La vitesse de germinations :

La vitesse de germination selon (Côme, 1970), est le laps de temps nécessaire aux graines pour germer. Elle peut être exprimée en pourcentage, en temps, ou en coefficient. Nous l'avons exprimée en temps conformément à la relation de (Kotowski, 1926).

N1 : nombre des graines germées au temps T1.

N2 : nombre des graines germées entre T1 et T2.

IV-5-2 Mesure des paramètres de croissance

En atteignant le dernier jour de comptage, nous avons ouvert les boîtes Pétri et sélectionné aléatoirement quelque pousse émergente dans chaque lot afin de mesurer la taille de la radicule et de l'hypocotyle. Les mesures ont été prises à l'aide d'un papier millimétrique et une règle graduée pour estimer leurs dimensions. Donc cette partie concerne :

a- La taille de hypocotyle.

b- La taille de la radicule.



Figure 21: ouverture des boîtes et mesure des tigelles et radicules des graines après germination à l'aide d'un papier millimétrique.

IV-6 Etude paramètre biochimique des graines**Préparation des solutions :**

Ethanol à 80% : 100 ml d'éthanol sont pris comme base, puis on y ajoute 28.59 ml d'eau distillée. D'après le tableau de dilution d'alcool ;

100 ml d'éthanol (100%) puis ajouter 28, 59 ml de H₂O

300 ml d'éthanol + (28,59)*3 = 80%

Dans un volume total de 300 ml d'éthanol, on incorpore 85.77 ml d'eau distillée.

Solution d'Anthrone : On introduit 400 mg d'anthrone dans une solution de 200 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄), puis mélanger la solution à l'aide d'une plaque chauffante agitatrice pendant 5 min.

Tris base : peser 30.25 g de Tris-HCl puis ajouter 200 ml H₂O et 7 ml de HCl. Mélanger la solution pendant 5 min à l'aide d'une plaque chauffante agitatrice. Ajuster jusqu'à 250 ml avec de l'eau distillée.

Solution Bradford : 25 ml d'éthanol + 50 ml d'acide orthophosphorique + 425 ml de l'eau distillée + 50 g de bleu de Coomassie. On mélange le tout avec une plaque chauffante pendant 5 min.

TCA : 500 mg de TCA (1%) + 100 ml de l'eau distillée, puis mélanger le tout avec une plaque chauffante pendant 5 min.

TBA : Dans 200 ml de l'eau distillée on ajoute 40 g de TCA et 1 g de TBA.

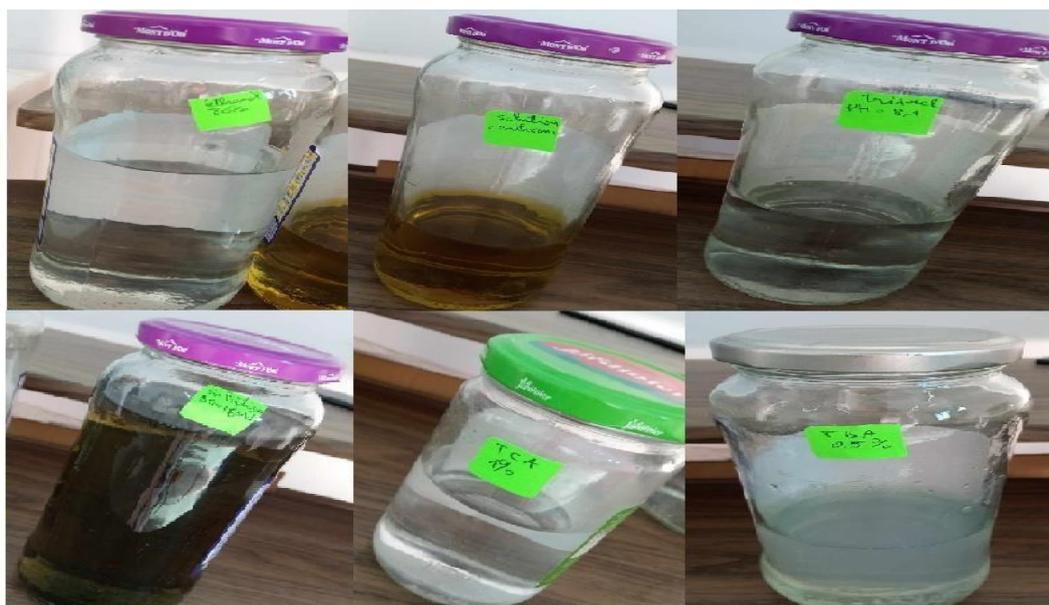


Figure 22 : les indicateurs (solutions) chimiques.

IV -6-1 Dosage des sucres solubles

Les sucres solubles jouent un rôle central dans la structure, le métabolisme et le fonctionnement des plantes. L'accumulation de sucres solubles (principalement, saccharose, glucose et fructose) peut être attribuée à une hydrolyse de l'amidon (Zhang et Archbold, 1993) et à l'inhibition de certaines voies métaboliques de synthèse (ImamulHuq, 1984). Ils seraient responsables du maintien de l'intégrité des structures membranaires, chloroplastiques et mitochondriales en particulier (Hoekstra et al, 1991).

Ils sont de plus impliqués, lors d'un stress, en tant que signaux capables d'activer des voies de signalisation aboutissant à des modifications d'expression (Ramel, 2009).

Extraction :

Les sucres solubles sont extraits à partir de 100 mg de matière végétale fraîche (MVF) de caroubier et de l'acacia (Fig. 23). Les feuilles cotylédons sont broyées dans 4 ml d'éthanol bouillant à 80 % (Fig. 24).

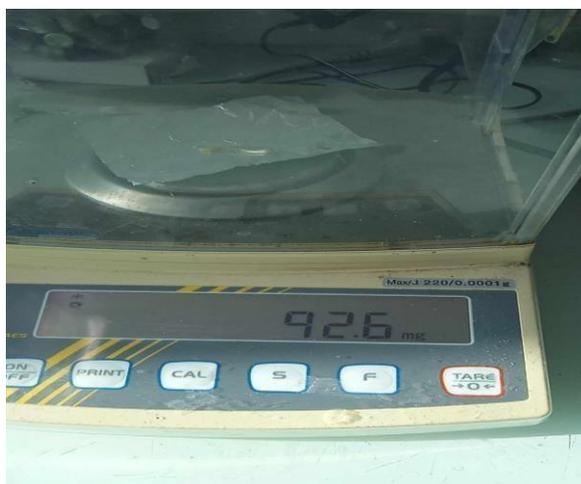


Figure 23: une balance pour peser la matière végétale.



Figure 24 : mortier pour broyer la matière végétale

Une fois broyés, nous avons transféré le liquide dans des tubes en plastique (**Fig. 25**).



Figure 25 : tubes en plastique contenant la solution

Après agitation, le mélange est soumis à une centrifugation pendant 20 mn à une vitesse de rotation de 5000 t/mn. Le surnageant est récupéré. Une deuxième extraction est réalisée et le surnageant est ajouté au précédent. Les deux surnageant sont mélangés et ajustés à 10 ml avec l'eau distillée

Dosage :

2 ml de réactif à l'anthrone (0.2 g dans 100 ml d'acide sulfurique à 95 %) sont rajoutés à 1ml d'extrait glucidique. Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda = 630$ nm.

Courbe d'étalonnage :

Elle est réalisée à l'aide de concentrations en sucre (glucose). La conversion des D.O. en concentrations ($\mu\text{g/g}$) à été réalisée à partir de l'équation :

$$y = 0,321x - 0,159 \text{ avec } R^2 = 0,985$$

IV-6-2 Dosage des Protéines solubles

Les protéines sont des macromolécules formé par la condensation d'un grande nombre d'unité appelées des aminoacides reliés par des liaisons peptidiques (**Henry, 2001**).

Le dosage des protéines s'effectue selon la méthode de Bradford (1976) à l'aide du bleu de Coomassie (G250). Ce complexe présente un maximum d'absorption à 595 nm. La coloration très sensible, peut être effectuée très rapidement et reste stable pendant 30 mn.

Extraction :

Peser 100 mg de matière végétale fraîche de chaque échantillon. Broyage la MVF avec 1.5 ml de tampon Tris-HCl PH 8.1 (30.25 tris HCl dans 200 ml H₂O + 7ml HCl + ajuster jusqu'à 250 ml) dans un mortier. Le mélange est soumis à une centrifugation pendant 10 min à 13000 t/mn.



Figure26: extraction des protéines

Dosage :

Prendre 3 ml de réactif de Bradford (50 mg du bleu de coomassie + 25 ml éthanol + 50 ml acide phosphorique + 425 ml H₂O) puis ajouter 100 µl d'extrait protéique.

Après l'agitation des solutions par vortex pendant 20 à 25 secs (**Fig. 27**), réaliser une lecture de densité optique à une longueur d'onde $\lambda = 595$ nm.



Figure 27 : agitation des solutions par vortex

La courbe d'étalonnage ;

La courbe d'étalonnage nous permet de tirer la correspondance entre les densités optiques et les concentrations des substances à doser. Cette courbe est réalisée à l'aide de concentrations croissantes en BSA obtenues à partir d'une solution mère de 1,5 mg/ml. La conversion des D.O en concentrations (mg/g) a été réalisée à partir de l'équation :

$$y = 5,211x \text{ avec } R^2 = 0,990$$

IV -6-3 Dosage des Malondialdéhydes (MDA)

Une molécule de MDA en milieu acide et à chaud est condensée avec deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose susceptible d'un dosage spectrophotométrique à une longueur d'onde $\lambda = 532$ nm. Cette technique présente d'excellentes qualités sur le plan de la sensibilité, sauf qu'elle manque de spécificité à

cause des interférences (molécules ne relevant pas du stress oxydant mais réagissant avec le TBA, mais elle reste le test le plus simple et le plus classique qui permet l'évaluation de la peroxydation lipidique (Lilya et al., 2020).

Extraction :

Broyer 100 mg de MVF dans 1.5 ml d'Acide Trichloracétique (CTA) à 1%, puis centrifuger à 12000 t/min pendant 20 min.

Dosage :

A 1000 μ L d'extrait protéique, rajouter 2ml d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0.5% (préparé dans le TCA à 20%).

Laisser incuber pendant 30 min dans un bain-marie à une température de 95°C (**Fig. 28**).



Figure 28 : incubation dans un bain-marie à 95°C

Après refroidissement, mesurer l'absorbance à des longueurs d'onde de 532 nm et de 600nm.



Figure 29 : tubes à essai continent la solution

Calculs : La teneur en MDA (m moles. g⁻¹ MVF) est calculée en utilisant le coefficient d'extinction molaire du MDA ($\epsilon = 155 \text{ mmol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

IV -6-4 Dosage de la Catalase (cat) :

L'activité de la CAT est déterminée en suivant la décomposition de H₂O₂ à 240 nm ($\epsilon = 34,9 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) (Lilya et al., 2020). La réaction catalysée est comme suit:



Extraction :

Broyer 100 mg de MV a une température basse (0 à 4°C) dans un mortier, en utilisant 1 mde tampon Tris-HCl à pH 8.1.

Centrifuger pendant 5 min à 1500 g à 4°C.

Dosage :

Dans une cuve en Quartzon ajoute 2ml de tampon phosphate-potassium (KH₂PO₄/Na₂HPO₄) pH 7.5, rajouté dans la cuve 100 µl d'extrait végétal.

Réaliser le zéro au spectrophotomètre à 240 nm.

Ajouter de 15 μl d' H_2O_2 à 6 % (10 mM) pour initier la réaction.

La variation de la DO est mesurée durant 3 min toutes les 30 secondes ($\varepsilon = 34.9 \text{ mmol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

IV -6-5 Dosage des prolines :

La technique utilisée pour le dosage de la proline est celle de **Troll et Lindsley (1955)** modifiée par **Magné et Larher (1992)**. Cette technique est basée sur la capacité de la proline à réagir en milieu acide et à chaud avec la ninhydrine (révélateur d'acides aminés aromatiques dont la proline) pour donner un composé de couleur rose soluble dans les solvants organiques tel que le toluène.

- **Préparation de la matière végétale sèche :**

Emballée la matière végétale fraîche (celle de caroubier et l'acacia) dans un papier aluminium, avant d'être placée dans un four à 70°C pendant 48 heures.

- **Préparation de la solution de ninhydrine :**

90 ml acide acétique + 22.5 ml acide orthophosphorique + 37.5 ml d'eau distillée + 3,75 g de ninhydrine

Extraction :

Dans des tubes d'Eppendorf 0.1 g de la matière végétale sèche (MVS) de chaque échantillon (l'acacia et le caroubier) sont broyés dans 2 ml d'eau distillée avec un peu de sable jaune pour faciliter le broyage.

Mettre les tubes au bain marie à 95°C pendant 30 min pour décomposer toutes les structures cellulaires (**Fig. 30**).



Figure 30: Les tubes d'Eppendorf dans le bain marie à 95°C

Ensuite, Placer les tubes sur la glace pour refroidir, puis les mettre dans la centrifugeuse pendant 15 min à 13000tr/min. Récupérer le surnageant et le culot séparément. L'extraction est réalisée une deuxième fois avec 1000 μ l d'eau distillée et le surnageant est ajouté au précédent.

Dosage :

2 ml du réactif à la ninhydrine est ajouté à 1000 μ l d'extrait de proline. Les tubes à essai sont placés dans un bain marie à 95° C pendant 20 min. Après refroidissement, 3 ml de toluène sont ajoutés. Après agitation au vortex (15 à 20 secondes), deux phases se développent (**Fig. 31**):

- La couche organique supérieure contenant la proline.
- La couche inférieure aqueuse qui sera éliminée.



Figure 31: Les deux phases

On prélève la couche supérieure et sa densité optique (DO) est mesurée à une longueur d'onde de $\lambda = 520$ nm au spectrophotomètre.

La courbe d'étalonnage:

Elle est réalisée à l'aide de concentrations croissantes en proline obtenues à partir d'une solution mère. La conversion des D.O en concentrations ($\mu\text{g/g}$) a été réalisée à partir de l'équation :

$$Y=0.0038x+0.085 \text{ avec } R^2= 0.987$$

V. Traitements statistiques

Pour chacun des concentrations appliqués, les résultats obtenus sur trois répétitions à raison de dix-huit graines par boîte de Pétri sont statistiquement analysées par le logiciel SPSS pour Windows, version 22. Une analyse de la variance (ANOVA) a été effectuée pour

la comparaison de plusieurs moyennes. Le test de Duncan est utilisé pour identifier la signification des différences entre les moyennes deux à deux au seuil de 5%. Dans les figures des paramètres étudiés, les barres représentent les écart-types.

Chapitre II :

Résultats et discussion

II-1 Résultats :

La germination est une période transitoire au cours de laquelle la graine qu'était à l'état de vie latente, manifeste une reprise des phénomènes de multiplication et d'allongement cellulaire (Deysson, 1967). Selon Guyot (1978), la germination, phase première de la vie de la plante, assure la naissance d'une jeune plantule aux dépens de la graine. Elle exige la réunion de conditions extérieures favorables à savoir l'eau, l'oxygène, et la température (Soltner, 2007) (Fig. 32/33).



Figure32: germinations des graines d'*Acacia cyanophylla*.



Figure 33: germination des graines de *Ceratonia siliqua*.

Dans notre étude, nous avons cherché à mettre en lumière les changements morphologiques, physiologiques et biochimiques observés chez les graines de *C. siliqua* et *A. cyanophylla* après un traitement avec des concentrations de nickel de 200, 400, 600, 800 et 1000 ppm pendant une durée de 16 jours.

II-1-1 Effet de nickel sur les paramètres de germination :

II-1-1-1 L'effet du nickel sur le pourcentage final de germination des graines de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*.

La **figure 34** montre les taux de germination finaux des graines de *C. siliqua* et *A. cyanophylla* exposées à diverses concentrations (200, 400, 600, 800 et 1000 ppm) pendant une période de 16 jours.

Nous avons observé que le taux de germination chez les témoins de *C. siliqua* a atteint 98%, alors que c'est le pourcentage le plus élevé. D'autre part, la concentration de 1000 ppm a enregistré le taux le plus bas, soit 80.89%.

Le pourcentage de germination chez les témoins de l'*A. cyanophylla* a atteint 40,49%, tandis que le pourcentage de germination le plus élevé 50,55% a été obtenu avec la concentration de 200 ppm de nickel. Par contre, la faible concentration (21%) a été enregistrée pour 600 ppm.

Les graines de *C. siliqua* présentent une tolérance plus élevée que celles de l'*A. cyanophylla*.

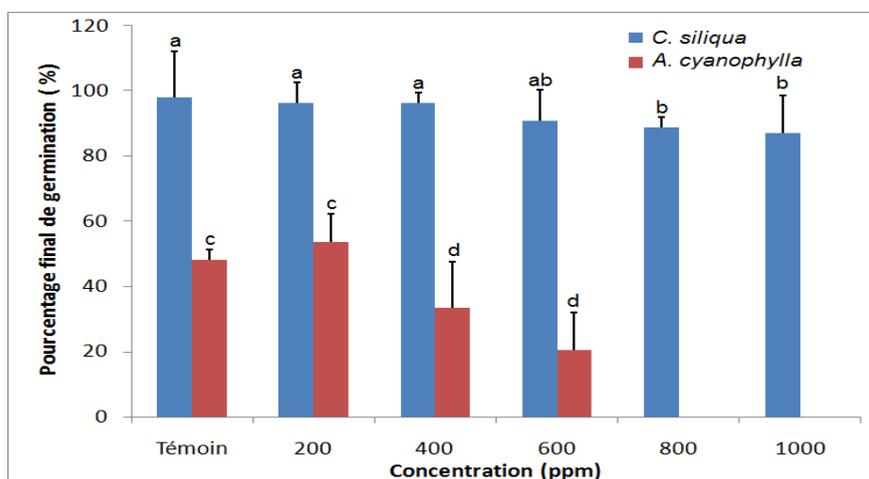


Figure 34 : Effet du nickel sur le pourcentage final de germination des graines de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*. Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan

II-1-1-2 L'effet du nickel sur le temps moyen de germination des graines de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*.

Les résultats de la vitesse de germination de l'*A. cyanophylla* montrent que la valeur de TMG la plus élevée est notée à la concentration de 600 ppm avec une valeur de 8,5 jours. Les valeurs les plus basses sont observées à la concentration 400 ppm avec un TMG de 5,55 jours.

La valeur de TMG la plus élevée chez les graines de *C. siliqua* est notée à la concentration 400 ppm avec une valeur de 6,2 jours. La valeur la plus basse est de 4,8 jours notée à la concentration 600 ppm.

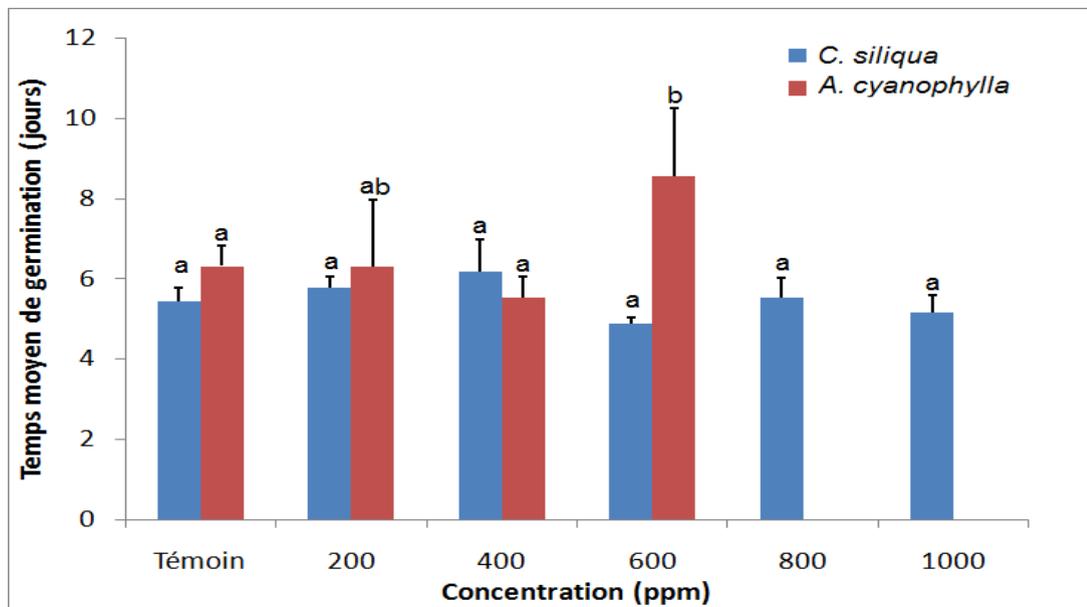


Figure 35 : Effet du nickel sur le temps moyen de germination des graines de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*. Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan.

II-1-2 Effet de nickel sur les paramètres biométriques :

II-1-2-1 L'effet de nickel sur la taille des racicules:

Les résultats obtenus pour ce paramètre, comme illustré dans la **figure 36**, mettent en évidence l'impact de stress sur le développement des racines des pousses de *C. siliqua* et *A. cyanophylla* après la germination des graines.

L'analyse statistique a mis en lumière une différence significative dans les longueurs moyennes ($p < 0,05$) ainsi que dans les concentrations utilisées et leur interaction, affectant le développement des plantules. La valeur maximale de 2,4 cm (*C. siliqua*) et 3,5 cm (*A. cyanophylla*) pour la longueur de radicule a été enregistrée chez les groupes témoins.

Nous avons observé une diminution, voire une disparition, de développement des racines chez les pousses de l'acacia qui ont germé sous stress. Une valeur de 0,6 cm a été relevée à la concentration de 200 ppm, et la valeur nul a été notée à des concentrations de 800 et 1000 ppm.

Par contre, pour le Caroubier, nous avons constaté une variation de la longueur des racines des pousses germées sous stress dans toutes les concentrations. Une valeur de 1,2 cm a été observée à une concentration de 200 ppm, et la valeur minimale de 0,48 cm a été observée à la concentration de 1000 ppm.

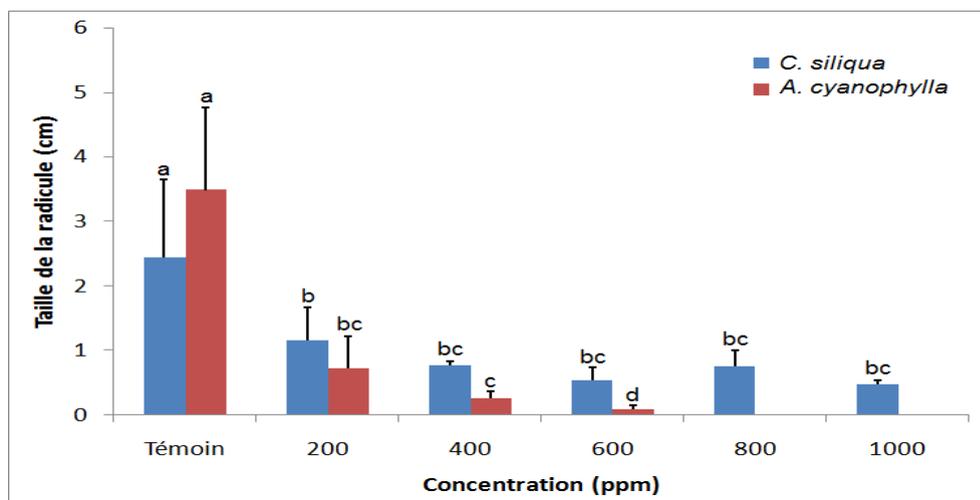


Figure36 : Effet du nickel sur la taille des racicules des pousses de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*. Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan.

II-1-2-2 l'effet de nickel sur la taille des hypocotyles

La **figure 37** illustre l'influence du Ni sur le développement et l'élongation de l'hypocotyle de deux espèces. L'analyse de la variance de la taille de l'hypocotyle du caroubier a confirmé une différence non significative avec l'augmentation de la concentration de Ni dans le milieu ($p > 0,05$). Nous avons observé que les valeurs sont presque constantes dans le groupe témoin ainsi que pour les concentrations de 200, 400 et 600 ppm (4,32 – 3,88 cm). Au-delà de 600 ppm, nous avons noté une diminution de la taille de l'hypocotyle. La taille moyenne la plus importante a été enregistrée pour la concentration de 400 ppm (4,32 cm), tandis que plus le stress métallique augmente, plus la croissance de l'hypocotyle est notablement affectée.

Pour ce qui est de l'*A. cyanophylla*, la taille de l'hypocotyle a diminué graduellement avec l'augmentation du Ni dans le milieu. La valeur la plus basse a été enregistrée chez les graines soumises à 600 ppm (0,29 cm), soit vingt-six fois moins que celle enregistrée chez le témoin (7,35 cm). L'apparition de l'hypocotyle chez les graines de cette espèce a été impossible aux 800 et 1000 ppm.

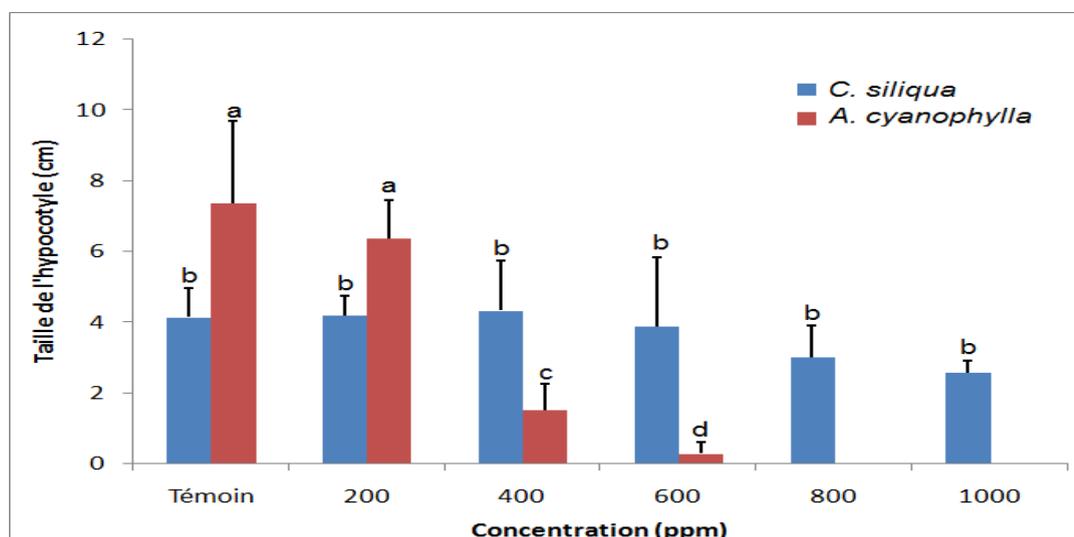


Figure 37 : Effet du nickel sur la taille des hypocotyles des pousses de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*. Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan

II-1-2-3 L'effet de nickel sur le poids frais

Les données de ce paramètre indiquent une réduction significative ($p < 0,05$) du poids frais (**Fig. 38**) chez les deux espèces à mesure que la concentration de nickel dans le milieu augmente. Cette diminution est plus prononcée chez l'*A. cyanophylla* par rapport au *C. siliqua*, qui semble être moins sensible (pour ce paramètre), notamment aux concentrations de

400 ppm et 600 ppm. Les valeurs moyennes enregistrées pour ces concentrations sont de 239,38 mg et 244,24 mg, respectivement, pour *C. siliqua* et de 46,42 mg et 31,2 mg pour l'*A. cyanophylla*, respectivement, par rapport aux témoins qui sont de 282, mg pour le caroubier et de 113,82 mg pour l'acacia.

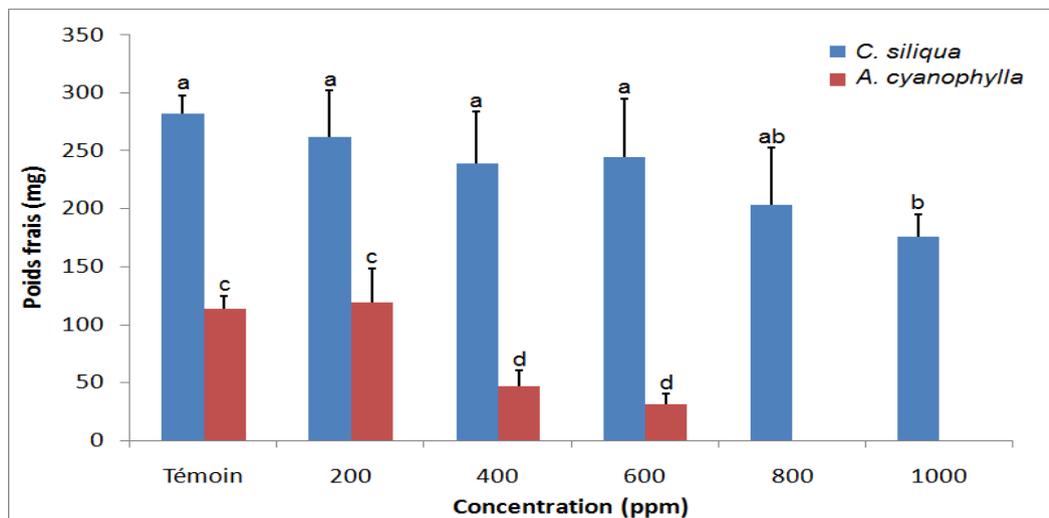


Figure 38 : Effet du nickel sur le poids frais des pousses de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*. Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan.

II-1-2-4 L'effet de nickel sur le poids sec

Les résultats illustrés dans la **figure 39** montrent que le poids sec des espèces a été influencé également par le stress induit par le Ni, entraînant une diminution significative ($p < 0,05$) de la matière sèche pour les deux espèces étudiées. Chez l'*A. cyanophylla*, une réduction du poids sec a été constatée avec l'augmentation de la concentration de nickel dans le milieu atteignant une valeur minimale à 600 ppm (12,12 mg). Chez le caroubier, cette diminution est plus marquée aux concentrations élevées de nickel (1000 ppm) par rapport aux témoins (18,82 mg vs. 32,665 mg, respectivement).

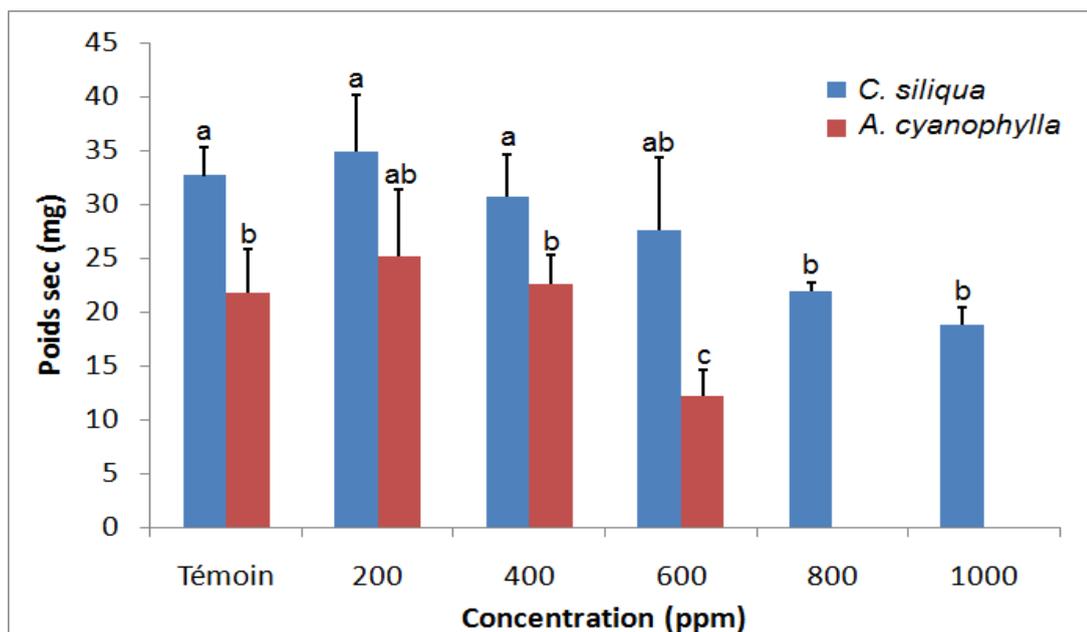


Figure 39 : Effet du nickel sur le poids sec des pousses de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*. Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan

II-1-3 Effet de nickel sur les paramètres biochimiques :

II-1-3-1 Effet du nickel sur la teneur en sucres solubles

La **figure 40** présente la teneur en sucres solubles mesurée dans les pousses de *C. siliqua* et *A. cyanophylla* à différentes concentrations de nickel (200, 400, 600, 800, et 1000 ppm). D'après les résultats obtenus pour l'*A. cyanophylla*, la teneur en sucres solubles augmente significativement ($p < 0,05$) avec l'amplification du stress métallique. La valeur la plus élevée est notée à la concentration de 600 ppm avec un taux de 3,16 mg/g MVF. La valeur la plus basse est observée chez les témoins avec une moyenne de 0,84 mg/g MVF.

La teneur en sucres solubles mesurée pour les pousses de *C. siliqua* montre que malgré l'augmentation de ces valeurs, une différence non significative a été enregistrée entre le témoin, 200, 400 et 600 ppm ($p > 0,05$). Les concentrations de 800 et 1000 ppm montrent des teneurs en sucres les plus élevées (2,9 et 3,45 mg/g MVF, respectivement).

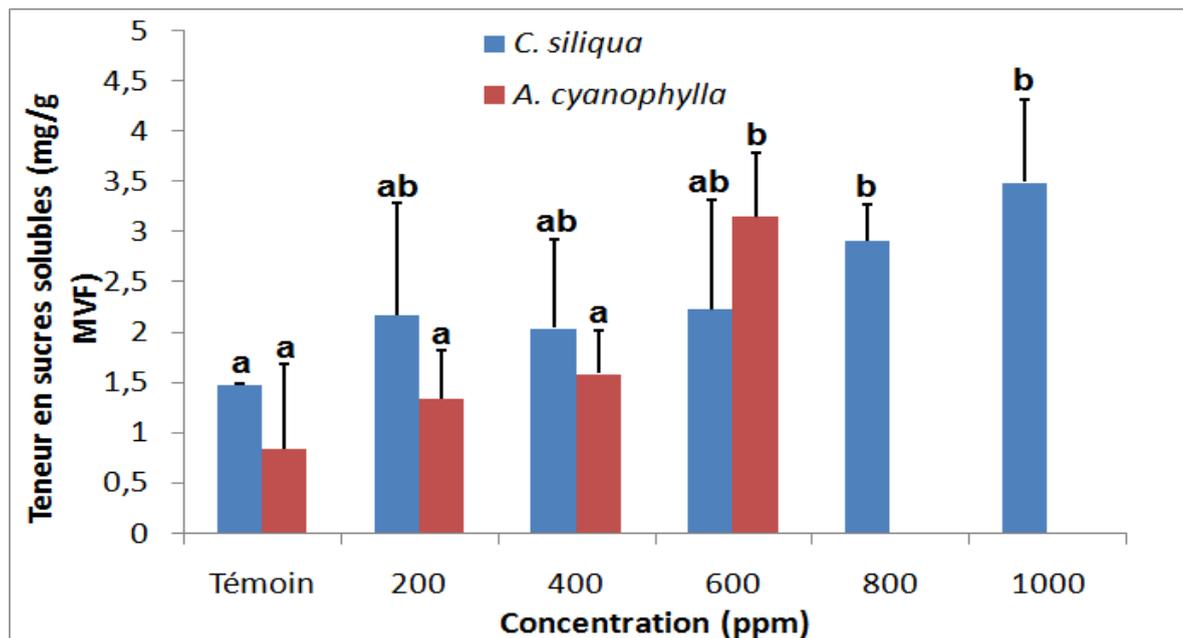


Figure 40 : Effet du nickel sur la teneur en sucres solubles des pousses de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*. Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan.

II-1-3-2 L'effet du nickel sur la teneur en protéines totales

Les données illustrées dans la **figure 41** représentent les résultats de l'effet du nickel sur la teneur en protéines totales des pousses de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*. Dans le cas de *C. siliqua*, nous avons observé que les teneurs en protéines varient entre 51,80 et 57,0 mg/g MVF entre toutes les doses de Ni utilisées (y compris le témoin), avec une accumulation statistiquement stable dans les milieux traités et non traités ($p > 0,05$). Pour l'*A. cyanophylla*, plus la concentration de Ni augmente dans le milieu plus on enregistre une augmentation de la teneur en protéines totales. La concentration de 600 ppm a généré une valeur maximale de 73,0 mg/g MVF, tandis que les témoins ont affiché la valeur minimale de 4,58 mg/g MVF.

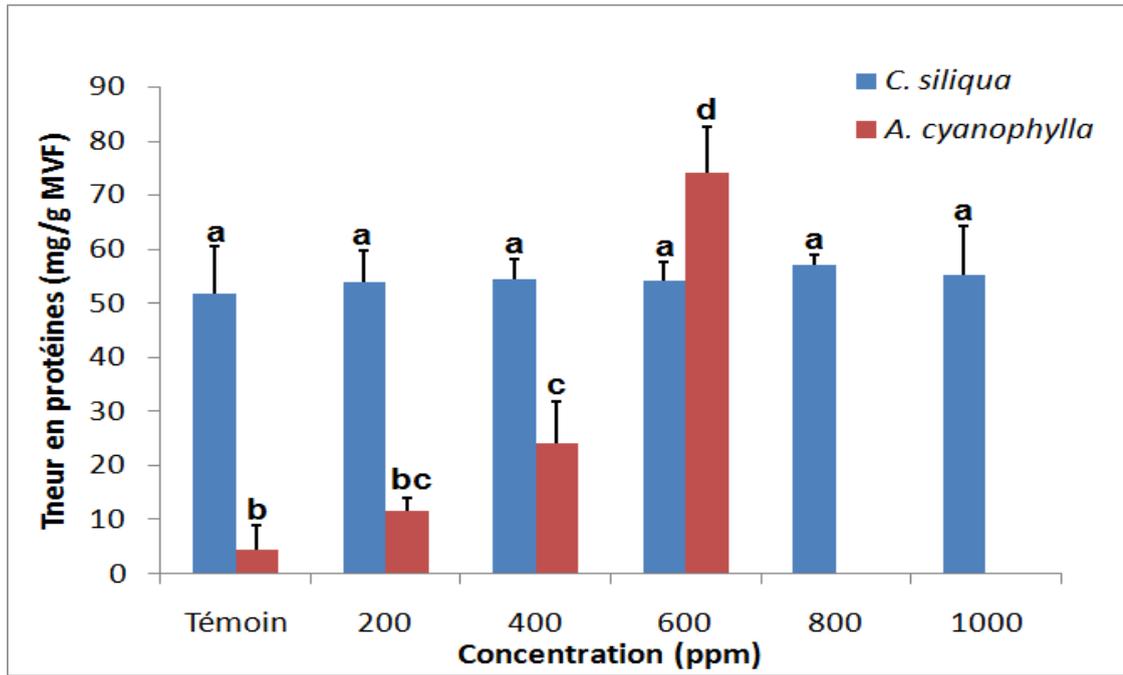


Figure 41 : Effet du nickel sur la teneur en protéines totales des pousses de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*. Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan.

II-1-3-3 L'effet du nickel sur la teneur en MDA

Les variations du taux de malondialdéhyde (MDA) chez les 2 espèces sont présentées dans la **figure 42**. Nos résultats montrent que le taux de MDA a augmenté chez les 2 groupes traités par rapport aux témoins, à l'exception de 600 ppm pour l'acacia (1,01 mg/g MVF). En effet, nous constatons que le taux de MDA du *C. siliqua* (caroubier) passe de 1,1 mg/g MVF chez les témoins à 1,73 mg/g MVF chez ceux traités avec une concentration de 200 ppm de Ni. Tandis que dans le cas de l'*A. cyanophylla*, le taux de MDA a presque doublé entre le témoins (1,26 mg/g MVF) et 200 ppm (2,1 mg/g MVF).

Par ailleurs, l'accumulation de MDA varie selon le stress ; en effet, le stress booste significativement ($p < 0,05$) la teneur en MDA, comme le cas du caroubier, où cette accumulation atteint une valeur maximale de 5,59 mg/g MVF à 800 ppm. Globalement, plus

La concentration de Ni augmente, plus on enregistre une augmentation de la teneur en MDA chez cette espèce.

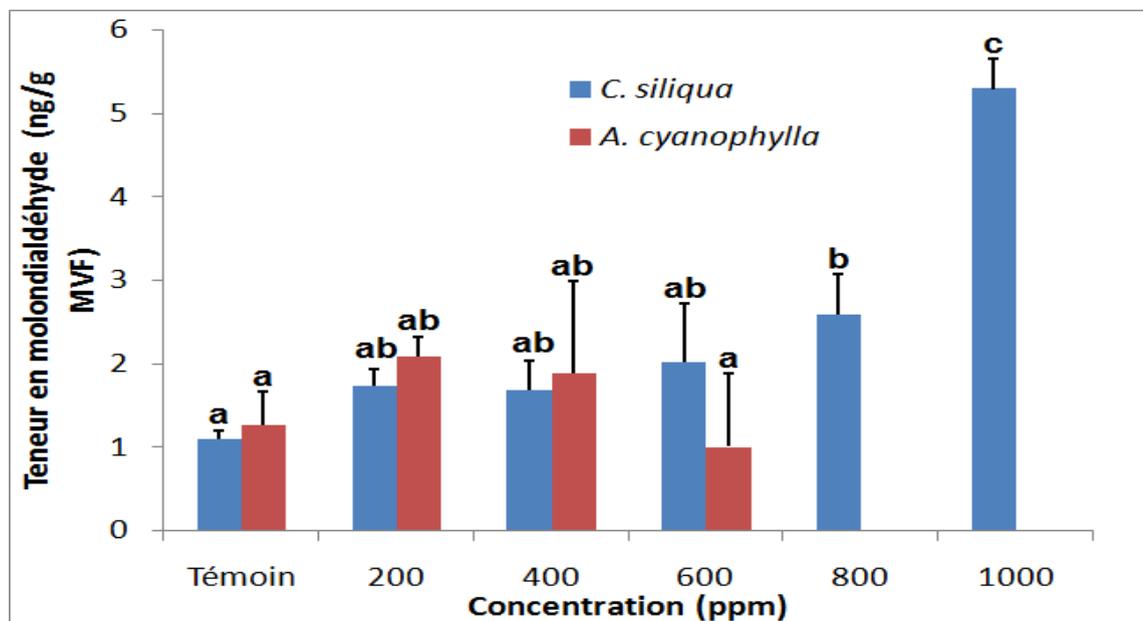


Figure 42 : Effet du nickel sur la teneur en MDA des pousses de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*.

Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan.

II-1-3-4 L'effet du nickel sur l'activité de la catalase

L'influence de l'addition du nickel sur l'activité de la catalase au niveau des pousses des plantes étudiées soumises au Ni est mise en évidence dans la **Figure 43**. Les observations montrent que l'activité de la catalase (CAT) pour les deux espèces étudiées présente des fluctuations significatives ($p < 0,05$) par rapport au contrôle.

Une augmentation significative de l'activité de la catalase est observée chez l'acacia indiquant que l'ajout du nickel stimule fortement l'activité de la catalase chez l'acacia, alors que, au-delà de 400 ppm, le traitement par le Ni réduit cette activité chez *C. siliqua*. De plus, les valeurs les plus élevées d'activité de la catalase pour *C. siliqua* sont observées à 200 ppm (1.18 mg/g MVF) et à 600 ppm pour l'*A. cyanophylla* (0.54 mg/g MVF).

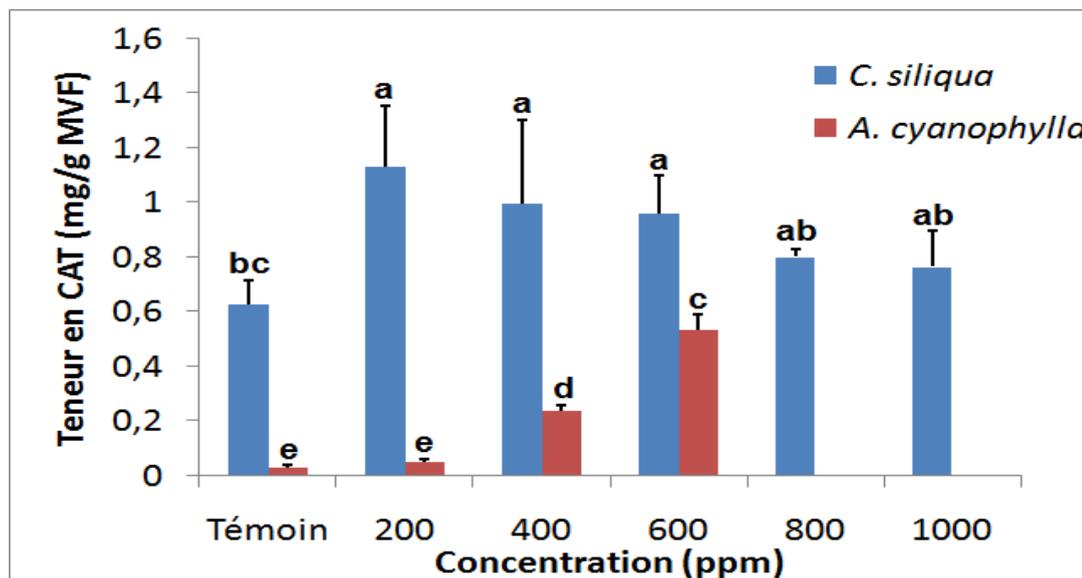


Figure 43 : Effet du nickel sur l'activité de la catalase chez les pousses de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*. Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan.

II-1-3-5 L'effet du nickel sur la teneur en proline libre

Les fonctions métaboliques des plantes sont souvent perturbées en conditions de stress métallique, notamment le métabolisme des acides aminés libres, dont la proline constitue l'élément principal de modification pour de nombreuses espèces. Les quantités accumulées ont tendance à augmenter avec l'intensité des stress imposés, et aussi à diminuer avec l'intensité des stress imposés à d'autres plantes.

Les résultats illustrés dans l'histogramme ci-dessous (**Figure 44**) indiquent que les teneurs en proline sont élevées chez *C. siliqua* (caroubier) par rapport à l'espèce *A. cyanophylla* pour les concentrations de 400 et 600 ppm dans des conditions de stress, en particulier lorsque la concentration en Ni est élevée. En effet, en l'absence de stress (cas témoins), on remarque un taux élevé de proline chez l'*A. cyanophylla* (58,8 $\mu\text{g/g MVS}$) par rapport au *C. siliqua* (33,8 $\mu\text{g/g MVS}$).

En revanche, sous une concentration de stress de 200 ppm, on observe une augmentation des teneurs en proline avec 73,68 $\mu\text{g/g MVS}$ chez l'*A. cyanophylla* et 42,53 $\mu\text{g/g MVS}$ chez *C. siliqua*. D'autre part, aux concentrations de 400 et 600 ppm, nous avons remarqué que la

teneur en proline libre diminue chez l'*A. Cyanophylla* (plus la concentration augmente, plus la teneur en proline diminue). En revanche, la teneur en proline augmente de manière non significative pour les plantules de *C. siliqua*, atteignant 54,74 $\mu\text{g/g}$ MVS à 800 ppm, puis diminuant jusqu'à 39,12 $\mu\text{g/g}$ MVS dans les lots traités par 1000 ppm.

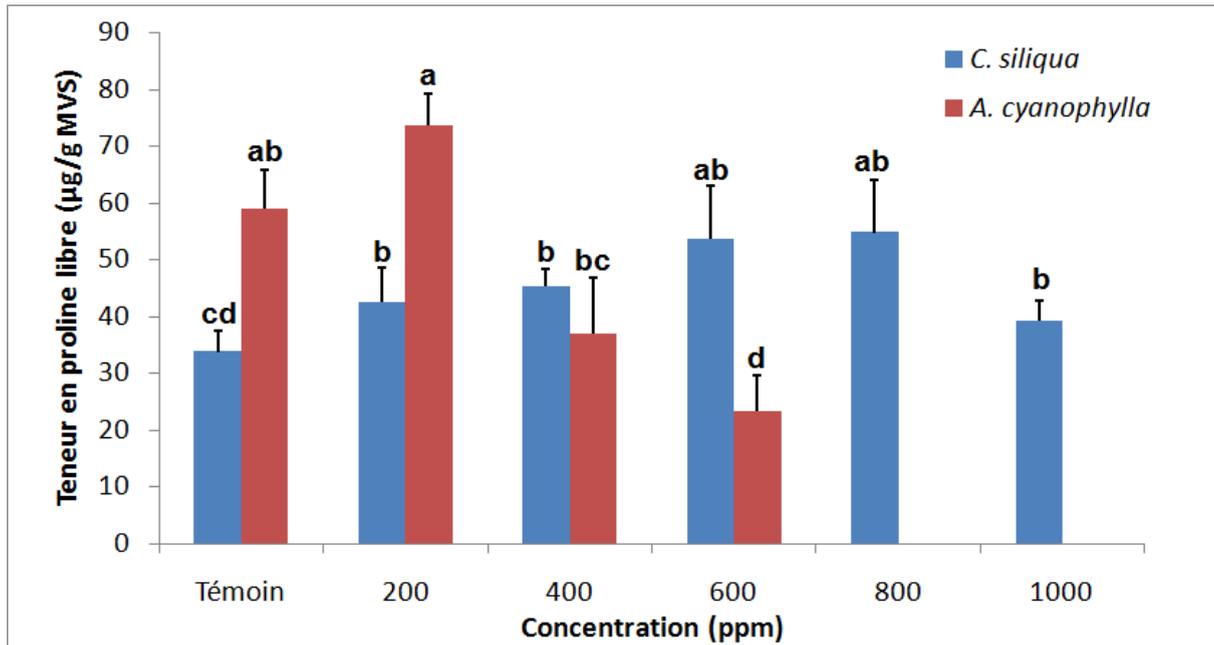


Figure44 : Effet du nickel sur la teneur en proline libre des pousses de *C. siliqua* et *A. cyanophylla*. Les moyennes libellées par différentes lettres minuscules indiquent des différences significatives ($p \leq 0,05$) selon le test de Duncan.

II-2 Discussion:

Dans le cadre de cette étude, notre objectif était d'évaluer et de comparer le comportement de deux espèces, *Ceratonia siliqua* et *Acacia cyanophylla*, soumises à différentes concentrations de Ni (200, 400, 600, 800 et 1000 ppm). Nous avons basé notre analyse tout d'abord sur des paramètres de germination, puis sur des paramètres biométriques et biochimiques.

La croissance des semis est considérée comme un indicateur du stress métallique sur la capacité des plantes à survivre. La toxicité de certains métaux peut être assez grosse pour la croissance des plantes d'une manière à retarder l'émergence des semis avant que de grandes quantités de l'élément puissent être transférées (**Haghiri, 1973**). Des rapports antérieurs ont également expliqué que différentes espèces et génotypes ont des capacités différentes d'accumulation de métaux lourds (**Krstić et al., 2007 ; Šijačić-Nikolić et al. 2012**).

Notre étude indique, également, que l'effet du stress métallique dépend étroitement des concentrations utilisées et de l'espèce traitée. Ceci a été déjà suggéré par **Dadach (2024)**. L'étude de la réponse aux stress métallique chez les deux espèces testées révèle que la contrainte métallique affecte l'ensemble des paramètres mesurés. Selon l'analyse des variables étudiées, il semble que le *C. siliqua* soit capable de tolérer des concentrations de Ni allant jusqu'à 1000 ppm, avec un taux de germination finale de 82 %, ainsi qu'un indice de tolérance plus élevé. En revanche, des concentrations élevées de Ni ont également un effet négatif sur la germination des pousses de l'*A. cyanophylla* (sont très sensible au stress), avec un taux final de 19,9 % et une inhibition totale de la germination à 800 ppm Ni. Cette concentration peut donc constituer une limite de tolérance et un critère de sélection. Chez plusieurs espèces végétales, le tégument assure une très haute protection contre les stress abiotiques, y compris ceux provoqués par les MLs, et les fortes variations interspécifiques des morphologies de ces téguments peuvent affecter leur perméabilité aux métaux (**Moise et al., 2005**). La diminution de la germination des graines et la croissance des semis due au traitement des métaux lourds est en conformité avec les résultats d'autres travaux (à savoir, **Ayaz et Kadioglu, 1997; Jamal et al., 2006; Kabir et al., 2008**). Par exemple, **Rahman et al. (2010)** ont observé une réduction de la germination des graines et la croissance des semis chez le pois chiche traité avec 50, 100, 200 et 400 ppm-Ni.

De plus, les longueurs de l'hypocotyle et des racines des plantules semblent être inhibées sous stress métallique. Il est évident que la diminution de la germination des graines et de la croissance des plantules s'accompagne par l'augmentation de la dose du métal, étant les phases les plus sensibles au traitement au Ni. Différentes études ont rapporté que les ions métalliques en quantités toxiques génèrent un effet négatif sur le processus photosynthétique (Fargašová et al., 2010 ; Mourato et al., 2015 ; Chandra et Kang, 2016). Comme nous avons vu chez l'*A. cyanophylla*, par exemple, Rosca et al. (2021) ont indiqué que la présence des ions de nickel dans le milieu exerce un effet de stress sur les plantes de colza. Il a été rapporté qu'il affecte la digestion et la mobilisation des réserves alimentaires telles que les protéines (augmentation) dans les graines en germination (Ahmad et Ashraf, 2011 ; Ashraf et al., 2011). Cette hypothèse peut expliquer la réduction de la longueur des racines, des hypocotyles, le poids frais et le poids sec, pour les deux plantes *A. cyanophylla* et *C. siliqua*. En générale les racines sont les plus sensibles aux métaux lourds par rapport à d'autres organes végétaux, parce qu'elles sont les premières cibles de passage et d'accumulation de ces métaux (Seregin et Ivanov, 1998).

Dans notre étude, nos résultats ont également révélé que les concentrations utilisées du nickel entraînaient une stabilité de la synthèse des protéines. De plus, aux concentrations de 200, 400 et 600 ppm, le nickel inhibait la teneur en sucres solubles, mais au-delà de 600 ppm, cette teneur augmentait dans les pousses de manière significative. L'effet des MLs sur la germination des graines augmente le contenu en malondialdéhyde et les fuites d'électrolytes (Siddiqui et al, 2011). Il est à déclarer que le niveau de MDA dans les pousses du caroubier augmentait de manière brusque avec la concentration de 1000 ppm Ni pour atteindre une valeur maximale de 5,30 mg/g MVF. Concernant la teneur en catalase, les résultats ont indiqué qu'elle diminuait significativement jusqu'à 0,76 mg/g MVF, tandis que le témoin atteignait 0,63 mg/g MVF, sans augmentation observée. De plus, le contenu en proline a augmenté dans les pousses du caroubier avec l'augmentation de la concentration de Ni dans le milieu de croissance.

Concernant l'*Acacia cyanophylla*, les résultats ont montré qu'à des concentrations plus élevées, la toxicité du nickel excite la synthèse des protéines (4,5 mg/g MVF-témoin jusque 74,0 mg/g MVF-600 ppm). Le nickel augmente significativement la teneur en sucres solubles, par rapport au témoin. La stabilité membranaire des cellules des pousses de l'acacia semble être maintenue ; une constatation consolidée par une diminution du contenu en MDA contrairement au caroubier. En effet, il a été constaté que le niveau de MDA dans les pousses

de l'*A. cyanophylla* diminue de manière significative avec l'augmentation de la concentration en Ni, atteignant jusqu'à 1,0 mg/g MVF. En ce qui concerne la teneur en catalase, les résultats ont montré qu'elle augmente non significativement jusqu'à 0,53 mg/g MVF, alors que le témoin affichait une activité plus basse de cette enzyme (0,03 mg/g MVF). Le contenu en proline a également diminué dans les pousses de l'*A. cyanophylla* avec l'augmentation de la concentration de Ni dans le milieu de croissance. Cependant, avec l'augmentation de la concentration de Ni, les parties des pousses ont montré une réduction de 70% dans l'accumulation de la proline entre les concentrations de 200 ppm et 600 ppm. Dans la plupart des espèces végétales, l'altération des activités biochimiques est responsable de la diminution de la croissance et de la germination des graines dans différentes cultures, c'est pourquoi le nickel semble être toxique, généralement à des concentrations prononcées (**Ahmad et al., 2012**).

Conclusion

Conclusion :

Les sols contiennent des éléments traces métalliques, générés par l'activité anthropogénique, et potentiellement polluants en fonction de leur concentration et de leur forme chimique dans le milieu. Leurs effets varient, certains étant essentiels à très faible concentration pour le métabolisme en général et pour la production végétale en particulier, et d'autres sont pas essentiels.

Le travail réalisé dans ce mémoire nous a fourni des données sur l'effet du stress métallique généré par le Ni sur deux espèces, l'*A. cyanophylla* et *C. siliqua*, à travers différents paramètres : la germination (taux final de germination, temps moyen de germination), les mesures biométriques (longueur des racines, des hypocotyles, poids frais et sec), ainsi que des paramètres biochimiques (contenu en sucres solubles, en protéines, MDA, catalase et proline)

Les recherches sur les effets des métaux lourds, particulièrement le nickel, sur la germination des graines d'*Acacia cyanophylla*, démontrent la grande sensibilité de cette espèce au stress métallique durant cette phase. Les concentrations élevées de métaux inhibent la germination sans toutefois entraîner la mort de la graine. En contraste, les graines de caroubier présentent une tolérance au stress métallique pendant la germination et parviennent à germer même à des concentrations atteignant jusqu'à 1000 ppm.

L'analyse des paramètres biochimiques a mis en évidence un effet toxique du Ni sur les deux espèces végétales, l'*A. cyanophylla* et la *C. siliqua*. Ces résultats révèlent clairement la présence d'un stress oxydatif chez ces plantes. Ce stress se manifeste de différentes manières : une augmentation des niveaux de protéines chez l'*A. cyanophylla* et une stabilité chez *C. siliqua*, une augmentation des sucres totaux dans les tissus des deux espèces, ainsi qu'une perturbation des niveaux de malondialdéhyde (MDA) avec une augmentation chez le caroubier mais une diminution chez l'*Acacia*.

En outre, on observe une augmentation de la teneur en catalase chez l'*A. cyanophylla*, tandis qu'une diminution est constatée chez le caroubier. Enfin, le caroubier présente initialement une augmentation suivie d'une stimulation de la proline, tandis que l'*acacia* voit sa teneur en proline diminuer.

Conclusion

En générale, le nickel a présenté un effet toxique chez les deux espèces, entraînant une inhibition de la germination et de la croissance, ainsi qu'un stress métallique associé à des modifications biochimiques. Toutefois, l'acacia et le caroubier ont réagi différemment à ce stress.

Référence :

A

Academie Des Sciences, (1998). Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leurs gestion ; Rapport n°42 Août.

Adriano, D.C. (2001). Trace elements in terrestrial environments; Biochemistry, bioavailability and risks of metals. Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg. Agric. Vol. 33: 149- 156.

Afnor, (1988). Prélèvement et dosage du plomb dans les aérosols. Paris.

Ahmad, MS., Ashraf, M. (2011). Essential roles and hazardous effects of nickel in plants. Rev Environ Contam Toxicol., 214:125–67.

Ahmad, M.S.A., Ashraf, M. (2012). Essential Roles and Hazardous Effects of Nickel in Plants. Springer: New York, NY, 125-167.

Alba L. Seedlings. Environmental Science and Pollution Research, 17, 187–194.

Albanell, E.(1990). Caracterización morfológica, composición química y valor nutritivo de distintas variedades de garrofa (*Ceratonia siliqua* L) cultivadas en Espana. Tesis doctoral. Barcelona. Espana, pp.209.

Aljasmí, M., El-Keblawy, A., Mosa, KA. (2021). Abiotic factors controlling germination of the multipurpose invasive *Prosopis pallida*: toward afforestation of salt-affected lands in the subtropical arid arabian desert. Trop Ecol 62:116–125. <https://doi.org/10.1007/s42965-020-00124-3> Applied Biochemistry and Biotechnology 59, 299–307.

Arris, S. (2008). Etude expérimentale de l'élimination des polluants organiques et inorganiques par adsorption sous-produits de céréale. Thèse de doctorat de l'université de Constantine- Algérie.

Ashraf, M. Y., Sadiq, R., Hussain, M., Ashraf, M., & Ahmad, M. S. A. (2011). Toxic effect of nickel (Ni) on growth and metabolism in germinating seeds of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Biological Trace Element Research, 143(3) 1695–1703.

Ayaz, F. A., Torun, H., Glew, R. H., Bak, Z. D., Chuang, L. T., Presley, J. M., et al. (2009). Nutrient content of carob pod (*Ceratonia siliqua L.*). Flour prepared commercially and domestically. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64, 286-292. Barcelona. España, pp. 209.



Battle, I., Tous, J. (1997). Carob tree (*Ceratonia siliqua L.*). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute: Rome, 1-79

Battle, I., Tous, J. (1997). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops (carob tree, *Ceratonia siliqua L.*). International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI): Rome, Italy.

Behanzin, G.J., Adjou, E.S., Yessoufou, A.G., Ahoussi, E.D., Sezan, A., (2015). Effet des sels de métaux lourds (chlorure de Cobalt et chlorure de Mercure) sur l'activité des hépatocytes. *J. Appl. Biosci.* 83, 7499–7505.

Ben Salem, H., Makkar H P S., Nefzaoui, A., Hassayoun, L., Abidi, S. (2005). Benefit from the association of small amounts of tannin-rich shrub foliage *Acacia cyanophylla* Lindl. with soya bean meal given as supplements to Barbarine sheep fed on oaten hay. *Animal Feed Science and Technology*. 122:173-186.

Benbrahim, K. F., Berrada, H., El Ghachtouli, N., et Ismaili, M., 2014. Les Acacias : des plantes fixatrices d'azote prometteuses pour le développement durable des zones arides et semi-arides. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 8 (1): 6-58.

Bennet, B. (1978). Caractéristiques physiologiques liées à l'halophilie et à la résistance aux sels. *Sco.Botfranc .Franc.Act.Bot*, p.3-4, p.73-93.

Berrabah, L., AIT SAID, S. (2020). Étude de la variabilité intra-spécifique de la gousse de *Ceratonia siliqua L.* dans le village de Sahel, région de Bouzeguène, Tizi-ouzou.

Bert, V. et al. (2013). Les phytotechnologies appliquées aux sites et sols pollués ; Etat de l'art et guide de mise en œuvre. EDP Science éd. s.l: Ademe.

Biner, B., Gubbuk, H., Karhan, M., Aksu, M., Pekmezci, M. (2007). Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua L*) in Turkey. Food Chemistry, 100, 1453-1455.

Boi, M.E., Fois, M., Podda, L., Porceddu, M., Bacchetta, G., (2023). Using Mediterranean native plants for the phytoremediation of mining sites: An overview of the past and present, and perspectives for the future. Plants 12, 3823.

Bouhrem, I. (2019). Le caroubier : Valorisation et utilisation industrielle.

Bourrelier, P.H., Berthelin, J. (1998). Contamination des sols par les éléments en traces: les risques et leur gestion. Rapport n°42, Académie des Sciences. (Ed). Lavoisier, 300p.

BRAIECH, I., BOUSNINA, M.(2019). Elimination des métaux lourds, des effluents industriels, par des zéolites de types FAU. Mémoire master de l'Université KASDI-MERBAH Ouargla-Algérie p21.

Brooks, R.R. (1998). Plants that Hyper accumulate Heavy Metals. (ed.) CAB International, Wallingford, UK, 380 p.



Canu, M., Mulè, P., Spanu, E., Fanni, S., Marrone, A., Carboni, G. (2022). Hemp cultivation in soils polluted by cd, pb and zn in the Mediterranean area: sites characterization and phytoremediation in real scale settlement. Appl Sci 12(7):3548. <https://doi.org/10.3390/app12073548>.

Chandra, R., Kang, H. (2016). Mixed Heavy Metal Stress on Photosynthesis, Transpiration Rate, and Chlorophyll Content in Poplar Hybrids. For. Sci. Technol., 12, 55–61.

Chapman, G. (1978). Toxicological considerations of heavy metals in the aquatic environment, in toxic materials in the aquatic environment. Oregon State University, WRI, Corvallis, OR. Phytoremediation.

Chaussat, R., ledeunff, y.(1975). la germination des semences .ed. bordars, paris, 232p.

Cistus species. Acta Oecol, pp 235 - 250.

Chouia, A. (2019). Etude Biochimique et Recherche d'Activité Antibactérienne et Antioxydante de Trois Plantes Mellifères (Hibiscus rosa sinensis, Acacia cyanophylla et

Matricaria recutita) de la région d'Ain Zaâtout (Biskra). THESE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT EN SCIENCES, 10 p

Côme, D. (1970). Les obstacles à la germination (monographie et physiologie végétale). Masson et Cie (Ed.) Paris, 162p.

Côme, D. (1982). Germination dans croissance et développement physiologie végétal II, Mazliak P., Collection méthodes, Harman, Paris, pp129-225.

Côme, D.(1967).L'inhibition de germination des graines de pommier(*pirus malus L*) non dormantes, rôle possible des phénols tégumentaires. Ann.sci.Nat.bot, VIII, pp371-478

Custódio, L.A.L., Escapa, E., Fernandes, A., Fajardo, A., Rosa, F., Albericio, N., Neng, J.M.F., Nogueira, A., Romano. (2011). Phytochemical profile antioxidant cytotoxic activities of the carob tree (*Ceratonia siliqua L.*) germ flour extracts, Plant Foods Human Nutrition 66 78–84.



Dadach, M. (2024). Exploring the effects of metallic toxicity on the seed germination and initial growth of *Lavandula stoechas L.* and *Myrtus communis L.*: Towards promoting the dissemination of aromatic plants in contaminated lands. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 40 : 100545

Deysson, G. (1967) Physiologie et biologie des plantes vasculaires, croissance, production, écologie, physiologie. Ed Société d'édition déneigement supérieur. Paris, 335p

Dushenkov, V., NandaKumar, PBA., Motto, H., Raskin, I. (1995). Rhizofiltration: The use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environ Sci Technol* 29:1239–1245.



El Euch, F. (2000). Rôle de l'*Acacia cyanophylla* dans l'alimentation du cheptel en Tunisie. Legumes for Mediterranean forage crops, pastures and alternative uses. Cahiers Options Méditerranéennes. 45 : 431-434.

Ernst, (2000) Fares, R., Sédairia, L. (2021) .Stress abiotique sur *Atriplex halimus L* : Effet des métaux lourds et caractérisation des biomarqueurs. Mémoire master Université Larbi Tébessi - Tébessa-Algérie. p27

Emst, (2000) ; Glass, (2000) Fares, R., Sédairia, L. (2021). Stress abiotique sur *AtriplexhalimusL* : Effet des métaux lourds et caractérisation des biomarqueurs.Mémoire master Université Larbi Tébessi -Tébessa-Algérie.p27

Evenari, M. (1957). Les problèmes physiologiques de la germination Bull.Soc Frnc.physiol-végé ,3(4), p.105-124.



Fargašová, A., Molnárová, M. (2010). Assessment of Cr and Ni Phytotoxicity from Cutlery-germination of mesquite (*Prosopisjuliflora* (Swartz.) DC). Internat. J. Environ. Sci. Technol.,3: 173-176.



Ghassemi-Golezani, K., Chadordooz-Jeddi, A., Nasrullahzadeh, S., Moghaddam, M. (2010). Influence of hydro-priming duration on field performance of pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *African Journal of Agricultural Researc.*,5(9): 893-897

Ghosh, M., Sing, S.P. (2005). A review on phytoremediation of heavymetals and utilization of its by products. *App Eco Environ Res.* 3 : 1-18.

Guyot, L., (1978)- La biologie végétale. 4ème édition. Collection "que sais-je ". Presses Universitaires de France, 127p.



Haghiri, F.(1973). Cadmium uptake by plants. *J. Environ. Qual.*, 2: 93-96.

Hammadache, Z.,Guerrache, S., Saib, S. (2016).L'évaluation du transfert des métaux lourds dans le système sol-plante (*Phragmites austrlis*) dans le bassin versant d'oued NIL la région de Jijel mémoire master de l'université de Boumeredes-Algérie.

Heller, R., Esnault, R., et Lance, C.(2004).Plant Physiology 1 Tome I. Nutrition. Dunod, Paris, Pages: 350.

Heller, r; esnault, s., lance, c. (1990). Physiologie Végétale, Masson Paris P 16.

(Henry, 2001).

Hoekstra F.A., Crowe J.H., Crowe L.M. (1991). Effect of sucrose on phase behavior of membranes in intact pollen of *Typha latifolia* L, as measured with Fourier transform infrared spectroscopy. *Plant Physiol.*, 9 : 1073-1079.

Hopkins, G.W. (2003). *Physiologie végétale*. 1ere Ed. Ed. De Boeck, 514 p.



Imamul Huq S.M. (1984). Comparaison de la résistance au stress salin de *Vigna sinensis* L et de *Phaseolus aureus* Roxb. Thèse de docteur ingénieur, université de Nancy-I, France, 185p



Jamal,SN., Iqbal, MZ., Athar, M.(2006). Effect of aluminum and chromium on the growth and germination of mesquite (*Prosopis juliflora* (Swartz.) DC). *Internat. J. Environ. Sci. Technol.*, 3: 173-176.



Kabata-Pendias, A., Pendias, H. (1992). *Trace elements in soils and plants*. London (UK) CRC Press, 2nd Ed.

Kabata-Pendias, A., Pendias, H. (2001). *Trace elements in soils and plants*. CRC Press, London l'environnement, p 14.

Kabir M, Iqbal MZ, Shafiq M, Farooqi ZR 2008. Reduction in germination and seedling growth of *Thespesia populnea* L., caused by lead and cadmium treatments. *Pak. J. Bot.*,40(6): 2419-2426.

Kawamura, Y. (2008). *CAROB BEAN GUM, Chemical and Technical Assessment (CTA)*

Kramer, (2005), Fares, R., Sédairia, L.(2021). *Stress abiotique sur *Atriplex halimus* L : Effet des métaux lourds et caractérisation des biomarqueurs » mémoire master de l'université de Tébessa-Algérie.p27.*

Krstić, B., Stanković, D., Igić, R., Nikolic, N. (2007).The Potential of Different Plant Species for Nickel Accumulation. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 21, 431-436.



Lafonj,p.,tharaud, c., prayeur, c. (1988).Biologie des plantes cultivées ii. Physiologie du développement génétique et amélioration.p.67-73.

Lamb, D.T., Ming, H., Megharaj, M.,Naidu, R. (2010). Phytoextraction and accumulation of lead in Australian native vegetation*Arch Environ Contamin Toxicol*. 58 (3): 6136621.

Lang, A. (1965).Effects of somme internal and external conditions on seed germination hand. *Pf lanzenphysiol*, 15(2), p.848-893.

Léger,J.F. (2007). Fiche eFlore d'Acacia saligna. La flore électronique de Tele botanica. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Vernaculaires des taxons de la BDTFX v.2.01.

Lilya, B., Réda, D. (2020). Travaux pratiiques En relation avec la Physiologie des Stress. Destinés aux étudiants de Licence et Master en Sciences du Végétal. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene : Algérie.p27

Loué, A. (1993). Oligo-éléments en agriculture. Ed. Nathan (ed), 45-177.



(Meagher et Heaton, 2005), in Fares, R., Sédairia,L. (2021).Stress abiotique sur *AtriplexhalimusL* : Effet des métaux lourds et caractérisation des biomarqueurs .Mémoire master de l'université de Tébessa-Algérie.

Maas, S., Scheifler, R., Benslama, M., Crini, N., Lucot, 463 E., Brahmia, Z., Benyacoub, S., Giraudoux.(2010). Spatial distribution of heavy metal concentrations in urban, suburban and agricultural soils in a Mediterranean city of Algeria. *Environmental Pollution* 158, 2294–2301.

Magné, C., Larher, F. (1992). High sugar content of extracts interferences with colorimetric determination of aminoacid and free proline. *Anal. Biochem.*, 200: 115-118.

- Makhniova, S., Mohnachev, P., Ayan, S. (2019).** Seed germination and seedling growth of scots pine in technogenically polluted soils as container media. *Environ Monit Assess.* <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7249-y>. 191:113.
- Maziliak, P.(1982).**croissance et développement .éd. Herma. Collection méthodes.-Grappin P; Bouinot D; Sotta B; Miginiac E et Jullien M., 2000 - synthesis imposes dormancy maintenance. *Planta* 210, 279-85.
- Mazliak, P. (1982).** Physiologie végétale « Croissance et developpement ». Vol. 2. Ed. Herman, 461 p.
- Mazliak, P.(1982).** Croissance et développement. Physiologie végétale II. Hermann ed., Paris, Collection Méthodes, 465p.
- McGrath, SP., Zhao, FJ., Lombi, E.(2002).** Phytoremediation of metals, metalloids, and radionuclides. *AdvAgron* 75:1–56.
- Mensbrug (1966) In Touaihia, S. (2021)** «Effet de quelques métaux lourds sur la germination et la croissance des plantules d'*Atriplexhalimus L*» mémoire master de l'université de tébessa –Algérie.
- Meyer, S., Reeb, C.,Bosdeveix, R.(2004).**Botanique, biologie et physiologie végétale .Ed.Moline, Paris, 461p.
- Mihoub et al. (2005) In Touaihia, S. (2021)** «Effet de quelques métaux lourds sur la germination et la croissance des plantules d'*Atriplexhalimus L*» mémoire master de l'université de tébessa –Algérie,p 04.
- Moreira, IN., Martins,LL., Mourato, MP. (2020)** Effect of Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn on seed germination and seedling growth of two lettuce cultivars (*Lactuca sativa L*). *Plant Physiol Rep* 25(2):347– 358. <https://doi.org/10.1007/s40502-020-00509-5>
- Mourato, M., Moreira, I.; Leitão, I.; Pinto, F.; Sales, J.; Martins, L. (2015).** Effect of Heavy Metals in Plants of the Genus Brassica. *Int. J. Mol. Sci.*, 16, 17975–17998.
- MoussavouMoudouma, CF., (2010).** Etude des mécanismes d'accumulation du cadmium chez *Arabidopsisthaliana* (écotype Wassilewskija) et chez un mélèze hybride (*Larix x eurolepis*) par des approches moléculaire et développementale. Thèse de Doctorat. P17.

Nedjimi, B.(2020). Germination characteristics of *Peganumharmala* L. (Nitrariaceae) subjected to heavymetals: implications for the use in polluted dryland restoration. *Int J Environ Sci Technol* 17:2113–2122.

Noumi, Z.(2010).*Acacia tortilis*(Forssk) Hayne subsp. *Raddiana* (Savi) Brenan en Tunisie pré-saharienne : structure du peuplement, réponses et effets biologiques et environnementaux. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en sciences biologiques-écologiques évolutives, fonctionnelles et des communautés. Faculté des sciences de Sfax, Tunisie, 154p



Ozden, Y., Kutbay, H.G.(2009). Toxicity of copper, cadmium, nickel, lead and zinc on seed germination and seedling growth in *Eruca sativa*. *Fresenius Environmental Bulletin* 18, 26–31.



Peer,WA., Baxter, IR., Richards, EL., Freeman, JL., Murphy, AS., (2005). Phytoremediation and hyperaccumulator plants. In Tamas MJ, Martinoia E (Eds) *Molecularbiology of metalhomeostasis and detoxification, from microbes to man. Topics in currentgenetics*, vol 14, pp 299–339.

Prasad et Frietas, (2003) In Fares, R. Sédairia, L., (2021) « Stress abiotique sur AtriplexhalimusL : Effet des métaux lourds et caractérisation des biomarqueurs » mémoire master de l'université de Tébessa-Algérie.

Pulford, I.D.,Watson, C. (2003). Phytoremédiation of heavymetalcontaminated land by trees. A review. *Environment International*, Vol. 29: 529-540.



Quezel, P.,Santa,S., (1963).Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (tome 1). Edition du centre national de la recherche scientifique, 557 p.



Rahman Khan, M., Mahmud Khan M,(2010). Effect of varying concentration of nickel and cobalt on the plant growth and yield of chickpea. *Australian J. Basic and Appl. Sci.*, 4(6): 1036-1046.

Rajjou, L., Gallardo, K., Debeaujon I; Vandekerckhove J; Job, C., Job, D., (2004). The effect of alpha-amanitin on the Arabidopsis seed proteome highlights the distinct roles of stored and neosynthesized mRNAs during germination. *Plant Physiol* 134, 1598-613.

Rakouth cité par Some, (1991) In Touaihia, S. (2021) «Effet de quelques métaux lourds sur la germination et la croissance des plantules d'*Atriplex halimus* L» mémoire master de l'université de Tébessa –Algérie.

Ramel, F. (2009). Implication des sucres solubles dans les réponses aux stress xénobiotique et oxydatif chez *Arabidopsis thaliana*. Thèse de doctorat, Université de Rennes 1, France.

Rejeb, M. N. (1995). Le caroubier en Tunisie: Situations et perspectives d'amélioration, in *Quel avenir pour l'amélioration des plantes?* Edit. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris, pp. 79-85.

Robert, M., Juste, C. (1999). Dynamique des éléments traces de l'écosystème sol. In Club CRIN Environnement et Ministère de l'environnement. Spéciation des métaux dans le sol. Paris : CRIN.

Rosca, M., Cozma, P., Minut, M., Hlihor, R.M., Betianu C., Diaconu, M. Gavrilesu, M. (2021). New Evidence of Model Crop *Brassica napus* L. in Soil Clean-Up: Comparison of Tolerance and Accumulation of Lead and Cadmium Plants, 10, 2051.

Roukas, T. (1993). Ethanol production from carob pods by *Saccharomyces cerevisiae*, *Food Biotechnology* 7, 159–176.

Roukas, T. (1996). Continuous ethanol production from nonsterilized carob pod extract by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* on mineral kieselguhr using a two-reactor system,

Applied Biochemistry and Biotechnology 59, 299–307.

Roukas, T. (1998). Citric acid production from carob pod extract by cell recycle of *Aspergillus niger*, *Food Biotechnology* 12, 91–104.v

Roukas, T. (1999). Citric acid production from carob pod by solid-state fermentation, *Enzyme and Microbial Technology* 24, 54–59.



Schnoor, J, Licht, L, Mccutcheon, S, Wolfe, N, CarreiraL. (1995).Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environ SciTechnol* 29:318–323.

Sereguine, I., etIvanov, V.(1998).Histochemical Investigation of Cadmium and Lead Distribution in Plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 44 : 791-796

Siddiqui, M.H., Al-Whaibi, M.H., Basalah, M.O. (2011). Interactive effect of calcium and gibberellin on nickel tolerance in relation to antioxidant systems in *Triticumaestivum* L. *Protoplasma*. 248, 503-511.

Šijačić-Nikolić, M., Stanković, D., Krstić, B., Vilotić, D., Ivetić, V. (2012) .The potential of different lime tree (*Tilia* spp) genotypes for phytoextraction of heavy metals. *Genetika*. 44,537- 548.

Singh, M., Kumar J., Singh, S., Singh, V.P., Prasad, S.M.(2015). Roles of osmoprotectants in improvingsalinity and droughttolerance in plants: areviewRev. *Environ SciBiotechnol*September, Volume 14, Issue 3, p 407-426.

Smits, E.A.H.P., Freeman, J.L. (2006). Environnemental cleanupusing plants biotechnologicaladvancesansdecologicalconsideration. *Front Eco Environ*. 4 : 203-210.

Soltner, D. (2007).Les bases de la production végétale tome III, la plante. Ed. Collection sciences et technique agricole Paris, p304.

Spichiger, R., Savolainen, V., Figeat, M., Jeanmonod, D., Perret, M. (2002). Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tampérées et tropicales. 2ème édition entièrement revue et augmentée. Presses polytechniques et universitaires romandes. Collect. "Biologie", Lausanne. p413

Sterckeman, T., Douay, F., Proix, N, H. Fourier.(2008). Contamination des sols vers la profondeur à Noyelles-Godault et Aubry. In: Un point sur....les éléments traces métalliques dans les sols approches fonctionnelles et spatiales. INRA. Editions Paris. p565.

Susarla, S., Medina, VF., McCutcheon, SC.(2002).Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. *Ecol Eng* 18:647–658.

T

Tollsten, L., Muller, P. (1996). Volatile organic compound emitted from beech leaves. *Phytochem* 43:759–762.

Troll, W., Lindsley, J. (1955). A photometric method for the determination of proline, *J. Biol. Chem.*, 215: 655-661.

W

Weiss, D., Shoty, W., Kempf, O. (1999).Archives of Atmospheric Lead Pollution. *Naturwissenschaften*.

Y

Yousif, A. K., Alghzawi, H. M. (2000). Processing and characterization of carob powder. *Food Chemistry*, 69, 283–287.

Z

Zhang, B., Archbold, D.D. (1993). Solute accumulation in leaves of *Fragaria chiloensis* and *F. Virginiana* selection responds to water deficit stress. *J Am Soc Hortic Sci*, 118 : 280-285.

Résumé :

Dans la région méditerranéenne, l'utilisation excessive d'engrais et d'agrochimiques contribue à l'accumulation de métalloïdes dans les sites agricoles. Cette étude identifie les effets phytotoxiques du nickel (Ni) sur les premiers stades de développement de deux arbres : *Acacia cyanophylla* et *Ceratonia siliqua*. Dans notre étude, nous avons examiné les changements dans la morphologie, la physiologie et la biochimie des graines de *Ceratonia siliqua* et d'*Acacia cyanophylla* après un traitement avec des concentrations de Ni de 200, 400, 600, 800 et 1000 ppm pendant 16 jours. Les résultats ont montré que le taux de germination le plus élevé était observé chez *C. siliqua*, avec un taux final de 98%. La tolérance la plus élevée a été observée chez cette espèce, avec une valeur de TMG de 8,5 jours dans la concentration de 600 ppm. L'étude a également révélé une différence significative dans la taille des pousses. Cette investigation a démontré que la concentration de Ni dans l'environnement influence de manière significative la croissance et le développement des hypocotyles de *C. siliqua* et d'*A. cyanophylla*. Notre étude a également indiqué que la concentration de nickel dans l'environnement affecte également la teneur en sucres, protéines, catalase, MDA et proline. Généralement, le caroubier a démontré une tolérance supérieure à celle de l'*Acacia cyanophylla*, qui est particulièrement sensible au nickel.

Mots-clés: La germination, les métaux lourds, la pollution, Tolérance aux métaux, phytoremédiation, *Acacia cyanophylla*, *Ceratonia siliqua*.

Abstract:

In the Mediterranean region, the excessive use of fertilizers and agrochemicals contributes to the accumulation of metalloids in agricultural sites. This study identifies the phytotoxic effects of nickel (Ni) on the early developmental stages of two trees: *Acacia cyanophylla* and *Ceratonia siliqua*. In our study, we examined the changes in morphology, physiology, and biochemistry of the seeds of *Ceratonia siliqua* and *Acacia cyanophylla* after treatment with Ni concentrations of 200, 400, 600, 800, and 1000 ppm for 16 days. The results showed that the highest germination rate was observed in *C. siliqua*, with a final rate of 98%. The highest tolerance was observed in this species, with an MGT value of 8.5 days at a concentration of 600 ppm. The study also revealed a significant difference in shoot size. This investigation demonstrated that the concentration of Ni in the environment significantly influences the growth and development of hypocotyls of *C. siliqua* and *A. cyanophylla*. Our study also indicated that the nickel concentration in the environment affects the content of sugars, proteins, catalase, MDA, and proline. Generally, the carob tree demonstrated superior tolerance compared to *Acacia cyanophylla*, which is particularly sensitive to nickel.

Keywords: Germination, heavy metals, pollution, metal tolerance, phytoremediation, *Acacia cyanophylla*, *Ceratonia siliqua*.

