

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

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des sciences biologiques de l'environnement**  
**Spécialité : Toxicologie Industrielle et Environnementale**



**Réf :.....**

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

**MASTER**

***Thème***

**Réponse germinative des graines de *Ballota hirsuta* soumis à  
différentes doses de chrome (Cr) et du plomb (Pb)**

Présenté par :  
**Lassouane Ranya & Bouzarari Leila**  
Soutenu le : **14 juin 2023**

Devant le jury composé de :

<b>Mr. Benadjaoud Ali</b>	<b>MCA</b>	<b>Président</b>
<b>Mr. Dadach Mohammed</b>	<b>MCA</b>	<b>Promoteur</b>
<b>Mr. Saadli Riadh</b>	<b>MCB</b>	<b>Examineur</b>

**Année universitaire : 2022 / 2023**



## *Remercîment*

*Ce travail n'aurait pas pu aboutir à des résultats satisfaisants sans l'aide et les encouragements de plusieurs personnes que nous remercions. Nous remercions également tous d'abord le Bon Dieu pour nous avoir donné le courage et la volonté pour réaliser ce travail. On tient tout particulièrement à remercier **Monsieur Dadach Mohammed**, notre encadreur, qui n'a pas ménagé le moindre effort pour nous assister dans le choix du thème et la réalisation du présent mémoire, l'expression de notre profonde gratitude quant à sa patience, le temps et l'attention qu'il nous a consacré. On remercie aussi chaleureusement tous les enseignants du Master « toxicologie industriel environnementale ». Nous remercions également les membres de jury d'avoir accepté d'évaluer notre travail, et qui ont bien voulu nous honorer par leur présence. Finalement, Toute notre gratitude pour ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*





## *Dédicace*

*À nos chers parents Kaci et Nora,*

*C'est avec une profonde gratitude et des mots sincères que nous vous dédions ce modeste travail de fin d'étude. Votre sacrifice inconditionnel et vos précieux conseils ont illuminé notre chemin vers la réussite. Nous sommes profondément reconnaissants pour tout ce que vous avez fait pour nous. Que Dieu vous comble de bonheur et vous accorde une longue vie.*

*Nous souhaitons également dédier ce travail à nos chères sœurs Amel et Nihad, à notre cher frère Abdeslam, ainsi qu'à nos précieux amis proches : Gherbi Rommaisa, Kati Taous, Akil Kahina, Hadjila, Izem Hania, Djenane Salima et ma chère binôme Bouzarari Leila. Votre soutien et votre contribution ont été essentiels dans l'élaboration de ce travail.*

*Enfin, nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance envers notre encadreur, Dadach Mohammed, pour sa précieuse guidance et son soutien tout au long de ce parcours.*

*Avec tout notre amour et notre gratitude.*

*Ranya*





## *Dédicace*

*Dédié à ma chère maman Fatima et à mon cher père Mustafa, qui m'ont inculqué des valeurs de persévérance, de détermination et d'amour inconditionnel. Votre soutien constant et vos encouragements ont été une source d'inspiration tout au long de ce parcours académique. Même si tu n'es plus parmi nous, cher papa, je sais que tu veilles sur moi de là-haut et que tu aurais été fier de cette réalisation a mes frères Ataman, Khaled, Sofiane et mes sœurs Faiza, Zina, Siham. Votre amour et votre soutien inconditionnel ont été une source d'inspiration tout au long de ce parcours académique. Je suis reconnaissant pour vos encouragements et votre présence. À ma binôme Lassouane Ranya, notre collaboration a été précieuse. Merci à mon encadreur Mme Dadach Mohammed pour sa guidance et ses conseils éclairés. À toutes ces personnes exceptionnelles, je dédie ce mémoire, en vous remerciant pour votre soutien et votre confiance. Merci du fond du cœur.*

*Leila*



## Liste des abréviations

28-HBL : 28-homobrassinolide

BR : Brassinostéroïdes

C : Concentrations

G (%) : le pourcentage de germination.

GLY I: Glyoxylase I

GLY II: Glyoxylase II

IVP : L'indice de vigueur des pousses

$K_2Cr_2O_7$ : Dichromate de potassium

MDA : Malondialdéhyde

ML: Métaux lourds

MV : Matière végétale

N1 : nombre de graines germées au temps T1

N2 : nombre de graines germées entre T1 et T2

NGG : le nombre des graines germées

ns : Non significatif

NTG : le nombre total des graines incubées

P : Valeur de probabilité

PGF : Paramètres de germination et de croissance

ppm : Parties par million

PS : Pousse sèche

TH : Taux de germination

TMG : Taux de Mortalité Germinatif

TR : Taille de la racicule (en centimètres).



## La Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Classification de <i>Ballota hirsuta</i> (Kechar, et al., 2016). .....	10
<b>Tableau 2</b> : Localisation et principaux caractères des espèces du genre <i>Ballota</i> localisées en Algérie.....	11

## La liste des figures

<b>Figure 1 : Les différents types de phytoremédiation (Paul, Rusty, Donardo, Pugh, &amp; Wise, 2014).</b> .....	5
<b>Figure 2 : <i>Ballota hirsuta</i> Benth. (ZAHNIT, et al., 2022).</b> .....	9
<b>Figure 3 : Les différents organes du <i>B. hirsuta</i>.</b> .....	10
<b>Figure 4 : Germination de graine monocotylédone.</b> .....	13
<b>Figure 5 : Germination de graine dicotylédone.</b> .....	13
<b>Figure 6 : Germination hypogée et épigée.</b> .....	14
<b>Figure 7 : Site d'expérimentation.</b> .....	18
<b>Figure 8 : Lieu de la récolte (google earth 2023).</b> .....	18
<b>Figure 9 : graines de <i>Ballota hirsuta</i> après rinçage et désinfection.</b> .....	20
<b>Figure 10 : balance à haute précision utilisée pour les pesages.</b> .....	21
<b>Figure 11 : méthode d'étiquetage.</b> .....	21
<b>Figure 12 : Traitement des graines de <i>Ballota hirsuta</i> par la solution de chrome.</b> .....	22
<b>Figure 13 : boîtes de Pétri prêtes à être placées dans l'étuve.</b> .....	23
<b>Figure 14 : l'étuve.</b> .....	23
<b>Figure 15 : Une balance pour peser la matière végétale.</b> .....	25
<b>Figure 16 : Mortier pour broyer la matière végétale.</b> .....	26
<b>Figure 17 : Tube en plastique contenant la solution.</b> .....	26
<b>Figure 18 : centrifugeuse utilisée lors de la séparation de surnageant et le culot.</b> .....	27
<b>Figure 20 : Tubes en verre pour l'incubation du surnageant.</b> .....	27
<b>Figure 20 : Spectrophotomètre pour la lecture de la densité.</b> .....	28
<b>Figure 21 : Effet du Pb et Cr sur le pourcentage final de germination des graines de <i>Ballota hirsuta</i> soumises à différentes doses métalliques.</b> .....	29
<b>Figure 22 : Effet du Pb et Cr sur la cinétique de la germination de des graines de <i>Ballota hirsuta</i>.</b> .....	30
<b>Figure 23 : Effet du Pb et Cr sur le temps moyen de germination des graines de <i>Ballota hirsuta</i> soumises à différentes doses métalliques.</b> .....	31
<b>Figure 24 : Effet du Pb et Cr sur la taille de l'hypocotyle des pousses de <i>Ballota hirsuta</i> soumises à différentes doses métalliques.</b> .....	32
<b>Figure 25 : Effet du Pb et Cr sur la taille de la racine des pousses de <i>Ballota hirsuta</i> soumises à différentes doses métalliques.</b> .....	33

<b>Figure 26 :</b> Effet du Pb et Cr sur l'indice de vigueur des pousses de <i>Ballota hirsuta</i> soumises à différentes doses métalliques. ....	34
<b>Figure 27 :</b> Effet du Pb et Cr sur la synthèse des protéines solubles des pousses de <i>Ballota hirsuta</i> soumises à différentes doses métalliques. ....	35

# Table des matières

**Remerciements**

**Les dédicaces**

**Liste des abréviations..... I**

**La Liste des tableaux..... II**

**La liste des figures..... III**

**Table des matières..... V**

**Introduction.....1**

## **Chapitre I : Phytoremédiation et métaux lourds**

**I La phytoremédiation ..... 2**

**I.1 Principe de la technique de phytoremédiation :..... 2**

**I.2 Les différentes techniques de la phytoremédiation : ..... 2**

**I.2.1 Phytostabilization :..... 2**

**I.2.2 Phytodégradation : ..... 2**

**I.2.3 Phytoextraction : ..... 3**

**I.2.4 Phytovolatilisation : ..... 3**

**I.2.5 Rhizofiltration :..... 4**

**I.3 Avantages et limites de la phytoremédiation :..... 5**

**II Les métaux lourds ..... 6**

**II.1 Définition :..... 6**

**II.2 Classification des métaux lourds : ..... 7**

**II.3 Origine des métaux lourds :..... 7**

**II.4 Les métaux lourds dans la plante :..... 8**

## **Chapitre II : Généralités sur *Ballota hirsuta***

**I Description ..... 9**

**II Classification..... 10**

III	Répartition géographique du genre Ballota.....	11
III.1	Dans le monde : .....	11
III.2	En Algérie :.....	11
IV	Comment cultiver.....	11

### **Chapitre III : Physiologie de la germination**

I	Définition .....	13
II	Les différents types de germination .....	13
II.1	Germination d'une monocotylédone :.....	13
II.2	Germination d'une dicotylédone :.....	13
II.3	Germination hypogée ou épigée :.....	13
III	Physiologie de la germination .....	14
III.1	Phase 1 :.....	14
III.2	Phase 2 :.....	14
III.3	Phase 3 :.....	15
IV	Conditions de la germination .....	15
IV.1	Conditions internes :.....	15
IV.2	Conditions externes : .....	15
IV.2.1	Eau :.....	15
IV.2.2	Oxygène : .....	16
IV.2.3	Température : .....	16
IV.2.4	Lumière (photosensibilité des semences) :.....	16
V	Différent obstacle de la germination .....	16
V.1	Dormance embryonnaire : .....	16
V.2	Inhibitions tégumentaires : .....	16
V.3	Dormance morphologique : .....	17
V.4	Inhibitions chimiques : .....	17

## Chapitre IV: Matériel et méthodes

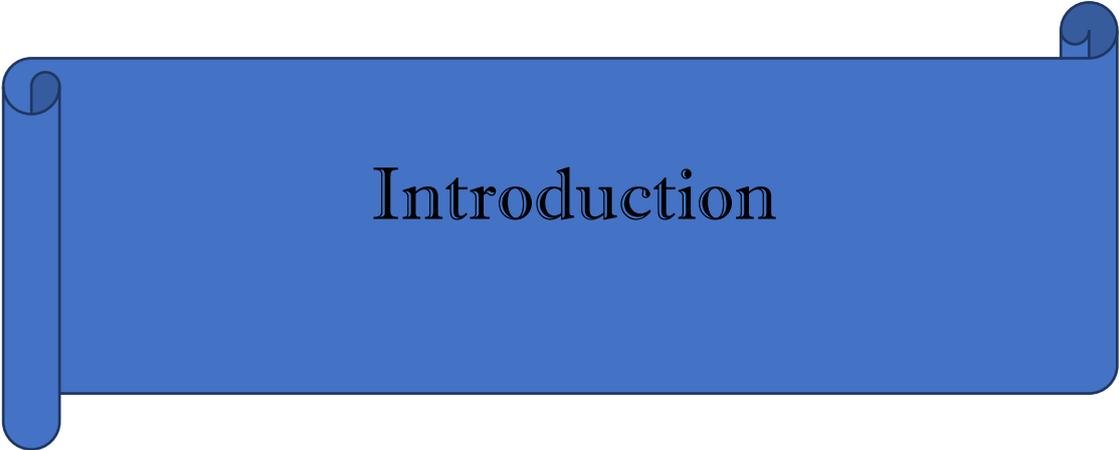
I	Lieu de manipulation.....	18
II	Présentation de la zone de récolte des graines .....	18
III	Matériels utilisés .....	19
III.1	Traitement des graines.....	19
III.2	Préparation des solutions de métaux lourds .....	20
III.3	Répartition des graines .....	21
IV	Comptage et mesure des graines .....	23
V	Traitement des donnés.....	23
V.1	Taux final de germination : .....	24
V.2	La cinétique de la germination .....	24
V.3	Vitesse de germination .....	24
V.4	Mesure des paramètres de croissance .....	25
V.5	Indice de vigueur des pousses .....	25
V.6	Extraction et dosage des protéines.....	25
V.7	Analyse statistique.....	28

## Chapitre V : Résultat et discussion

I	Effet du Pb et Cr sur les paramètres de germination des graines de <i>Ballota hirsuta</i> .....	29
II	Effet du Pb et Cr sur les paramètres de croissance des pousses de <i>Ballota hirsuta</i> .....	32
III	Effet du Pb et Cr sur la synthèse des protéines soluble.....	35
	<b>Conclusion.....</b>	<b>37</b>
	<b>Références.....</b>	<b>39</b>

**Annexes**

**Résumé**



# Introduction

Les métaux lourds sont des éléments chimiques présents naturellement dans l'environnement, mais leur concentration élevée peut résulter de diverses activités anthropiques telles que l'industrie minière, les décharges de déchets et les rejets industriels. Ces métaux lourds, tels que le chrome (Cr) et le plomb (Pb), peuvent avoir des effets néfastes sur les organismes vivants, y compris les plantes (**Tiwari and Lata 2018**).

La germination des graines et le début de la croissance des plantes sont des étapes critiques dans le cycle de vie d'un végétal. Ils sont essentiels pour assurer la survie et la propagation des plantes (**Aljasm et al. 2021**). Cependant, les métaux lourds peuvent perturber ces processus en interférant avec les fonctions physiologiques et biochimiques des plantes.

Dans le cadre de ce mémoire, nous nous intéressons à l'espèce végétale *Ballota hirsuta*. Cette plante est connue pour sa capacité de s'adapter à des conditions environnementales difficiles (**Dadach et Mehdadi, 2018**), y compris la présence de métaux lourds. Elle est considérée comme une espèce tolérante aux métaux lourds, ce qui signifie qu'elle peut survivre et se développer dans des sols contaminés.

L'objectif de cette étude est d'analyser la réponse germinative des graines de *B. hirsuta* soumises à différentes doses de chrome et de plomb. Nous examinerons les effets négatifs des métaux lourds sur la germination et le début de croissance de cette espèce, ainsi que les mécanismes potentiels impliqués dans la tolérance aux métaux lourds chez *B. hirsuta*.

De plus, nous discuterons de l'importance de la restauration des milieux impactés par les métaux lourds. La dépollution des sols contaminés par ces substances toxiques est un défi majeur pour préserver la biodiversité et maintenir l'équilibre des écosystèmes (**Nedjimi, 2020**). Nous explorerons les approches actuelles utilisées pour la décontamination des sols et la réhabilitation des zones touchées par les métaux lourds.

Cette étude contribuera à une meilleure compréhension des effets des métaux lourds sur les processus de germination et de croissance des plantes, ainsi qu'à l'évaluation de la capacité de *B. hirsuta* à survivre dans des environnements contaminés. Les résultats obtenus pourraient également avoir des implications importantes pour la restauration des milieux impactés par les métaux lourds, en offrant des pistes pour le développement de stratégies de dépollution plus efficaces et durables.

# Chapitre I

## Phytoremédiation et métaux lourds

## **I La phytoremédiation**

### **I.1 Principe de la technique de phytoremédiation :**

Connue sous le nom de phytoremédiation « phyto » = plante et « remedium » = rétablissement de l'équilibre, remédiation, la phytoremédiation est définie comme l'utilisation de plantes pour extraire ou transformer les polluants organiques et aussi inorganiques (plus particulièrement les métaux lourds) (**Zouainia, 2017**).

La phytoremédiation est une technologie émergente qui utilise les plantes ou les microorganismes de la rhizosphère pour extraire, transformer ou stocker les polluants contenus dans les sols, les sédiments, les eaux souterraines ou de surface et même l'atmosphère (**Zouainia, 2017**).

### **I.2 Les différentes techniques de la phytoremédiation :**

La phytoremédiation est une technique de dépollution des sols et des eaux contaminées par des polluants organiques ou inorganiques en utilisant des plantes. Voici quelques-unes des techniques de phytoremédiation les plus couramment utilisées :

#### **I.2.1 Phytostabilization :**

La phytostabilisation est l'une des techniques de phytoremédiation les plus éprouvées. La phytostabilisation est aussi appelée replantation ou revégétalisation. Ce phénomène est fréquent dans les zones polluées (**Raveton, 2015**).

La phytostabilisation consiste à utiliser la capacité de la plante à adsorber les polluants et à stabiliser le sol grâce à son système racinaire, protégeant ainsi le sol de l'érosion éolienne et hydrique et permettant l'infiltration de l'eau dans le sol. Les plantes fixent les contaminants dans la région racinaire en exsudant des composés, en inhibant les protéines de transport de la membrane racinaire et en déposant des contaminants dans les vacuoles des cellules racinaires (**Raveton, 2015**).

#### **I.2.2 Phytodégradation :**

La phytodégradation est une technique de phytoremédiation qui utilise les capacités des plantes à dégrader les polluants organiques en produits non toxiques et stables. Les plantes produisent des enzymes qui peuvent décomposer les polluants organiques en composés plus simples qui sont moins toxiques pour l'environnement.

Les plantes utilisées pour la phytodégradation doivent être choisies en fonction des polluants présents dans le sol ou l'eau à dépolluer, ainsi que de leur capacité à produire les enzymes nécessaires pour dégrader ces polluants. Les plantes utilisées pour la phytodégradation comprennent souvent des bactéries, des champignons et des algues qui ont la capacité de dégrader les polluants organiques (**Raveton, 2015**).

La phytodégradation peut être utilisée pour dépolluer les sols et les eaux contaminées par des polluants organiques tels que les hydrocarbures, les solvants et les produits chimiques organiques. Cependant, elle peut être limitée dans les sols fortement contaminés, car les concentrations élevées de polluants peuvent être toxiques pour les plantes et inhiber leur capacité à dégrader les polluants (**Raveton, 2015**).

### **I.2.3 Phytoextraction :**

La phytoextraction est destinée aux sols modérément à légèrement contaminés. Cette technologie consiste à exploiter la capacité de certaines plantes accumulatrices ou hyperaccumulatrices à transférer les métaux lourds de leurs racines via des transporteurs vers les tissus foliaires et à extraire les contaminants des sols contaminés. Les polluants sont stockés dans la biomasse végétale et les vacuoles des cellules foliaires par lignification. Après accumulation de contaminants par les plantes, elles sont récoltées et transformées. Ce processus est répété jusqu'à ce qu'il y ait une réduction notable de la contamination du sol (**Migeon, 2009**).

### **I.2.4 Phytovolatilisation :**

La phytovolatilisation est une technique de phytoremédiation qui consiste à utiliser les plantes pour volatiliser les contaminants présents dans le sol ou les eaux souterraines. Les plantes utilisées pour la phytovolatilisation absorbent les contaminants par leurs racines, puis les transforment en gaz qui sont libérés dans l'atmosphère.

La phytovolatilisation est souvent utilisée pour éliminer les contaminants organiques volatils tels que les solvants chlorés, les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les composés organiques volatils. Les plantes les plus couramment utilisées pour la phytovolatilisation sont les herbes et les arbustes, notamment la lavande, le romarin, la sauge et le thym. (**Migeon, 2009**).

La phytovolatilisation présente plusieurs avantages par rapport aux autres techniques de phytoremédiation, notamment sa faible consommation d'énergie et son coût relativement

faible. De plus, la phytovolatilisation peut être utilisée dans les zones où l'accès au sol contaminé est difficile, comme les sites de décharges ou les terrains urbains. Cependant, la phytovolatilisation a également des limites, notamment la nécessité de trouver des plantes adaptées aux contaminants présents dans le sol et le risque de libération de gaz potentiellement toxiques dans l'atmosphère (**Migeon, 2009**).

### **I.2.5 Rhizofiltration :**

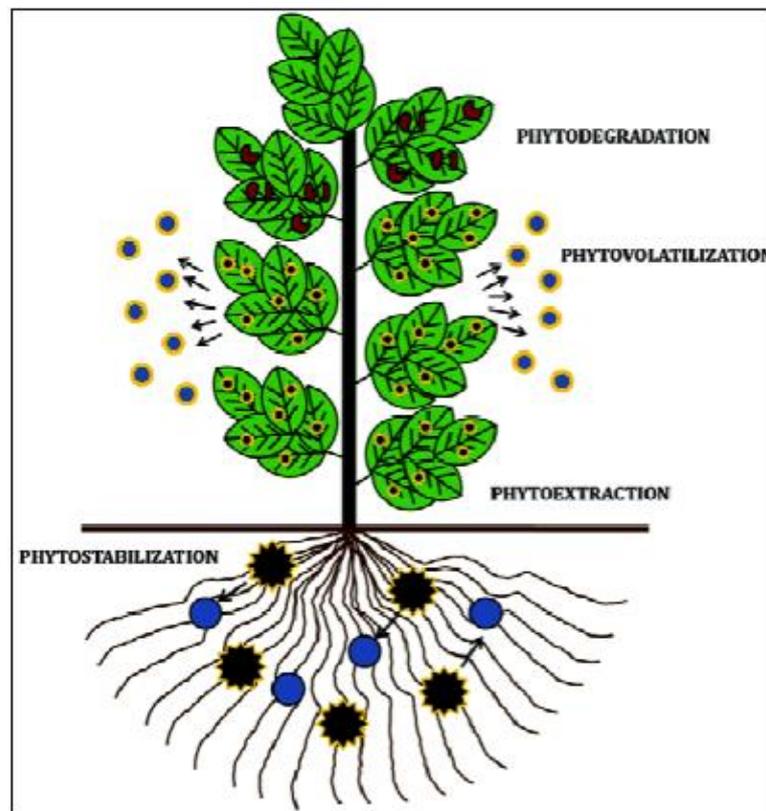
La rhizofiltration est une technique de phytoremédiation qui utilise les racines des plantes pour filtrer les contaminants présents dans les eaux souterraines. Les plantes utilisées pour la rhizofiltration ont des racines qui absorbent les contaminants de l'eau, puis les transforment en substances moins nocives (**Migeon, 2009**).

La rhizofiltration est souvent utilisée pour éliminer les métaux lourds, les nitrates, les phosphates et les hydrocarbures présents dans l'eau. Les plantes les plus couramment utilisées pour la rhizofiltration sont les roseaux, les joncs et les iris.

Le processus de rhizofiltration commence par la plantation des plantes dans des bassins ou des étangs construits spécialement pour la phytoremédiation. Les racines des plantes poussent dans l'eau et absorbent les contaminants présents dans l'eau. Les contaminants sont ensuite transportés jusqu'aux feuilles ou aux tiges des plantes, où ils sont dégradés en substances moins nocives (**Migeon, 2009**).

La rhizofiltration présente de nombreux avantages par rapport aux autres techniques de dépollution de l'eau, notamment sa faible consommation d'énergie et son coût relativement faible. De plus, les plantes utilisées pour la rhizofiltration sont souvent attrayantes et peuvent servir à améliorer l'esthétique des sites de dépollution. Cependant, la rhizofiltration a également des limites, notamment la nécessité d'un suivi régulier pour éviter la saturation des racines des plantes et la nécessité de trouver des plantes adaptées aux contaminants présents dans l'eau (**Migeon, 2009**).

Il est important de noter que chaque technique de phytoremédiation a ses avantages et ses limites, et qu'elles peuvent être utilisées seules ou combinées pour traiter différents types de contaminants.



**Figure 1** : Les différents types de phytoremédiation (Paul, Rusty, Donardo, Pugh, & Wise, 2014).

### I.3 Avantages et limites de la phytoremédiation :

La phytoremédiation présente plusieurs avantages par rapport aux autres techniques de dépollution (Koller, 2014), notamment :

**Faible coût** : La phytoremédiation est souvent moins coûteuse que d'autres techniques de dépollution, notamment les méthodes de traitement chimique.

**Durabilité** : La phytoremédiation est une méthode de dépollution durable, car elle utilise des plantes vivantes pour éliminer les contaminants. Les plantes peuvent continuer à pousser et à éliminer les contaminants pendant plusieurs années.

**Faible impact environnemental** : La phytoremédiation est une méthode de dépollution qui a un faible impact sur l'environnement car elle n'utilise pas de produits chimiques toxiques ou de procédés industriels intensifs.

**Polyvalence** : La phytoremédiation peut être utilisée pour traiter une grande variété de contaminants, tels que les métaux lourds, les hydrocarbures, les pesticides, les nitrates, les phosphates et les solvants chlorés.

Cependant, la phytoremédiation a également des limites (Koller, 2014), notamment :

**Lenteur** : La phytoremédiation peut être un processus lent, car il faut souvent plusieurs années pour éliminer complètement les contaminants présents dans le sol ou l'eau.

**Incertitude** : Il peut être difficile de prévoir avec précision le taux de dépollution et le temps nécessaire pour éliminer complètement les contaminants.

**Limitations techniques** : Certaines formes de contaminants, tels que les métaux lourds très toxiques, peuvent être difficiles à éliminer par la phytoremédiation.

**Limitations géographiques** : La phytoremédiation est souvent limitée aux zones où les plantes peuvent pousser. Les régions arides ou les sites contaminés avec un pH extrême peuvent présenter des défis pour la phytoremédiation.

En somme, la phytoremédiation est une technique de dépollution prometteuse qui présente des avantages et des limites, et qui doit être utilisée avec soin en fonction des circonstances spécifiques de chaque site contaminé.

## II Les métaux lourds

### II.1 Définition :

Les métaux lourds sont des éléments métalliques ayant une densité élevée et une toxicité potentiellement dangereuse pour l'environnement et la santé humaine. Les métaux lourds comprennent des éléments tels que le plomb, le mercure, le cadmium, le cuivre, le zinc, le nickel et le chrome, entre autres. Les métaux lourds peuvent être toxiques même à de faibles concentrations et leur accumulation dans l'environnement peut causer des dommages écologiques, perturber les écosystèmes et causer des effets néfastes sur la santé humaine. Les sources de contamination peuvent inclure l'activité industrielle, l'exploitation minière, la combustion de combustibles fossiles, l'utilisation de pesticides et d'engrais, entre autres. Les métaux lourds sont une préoccupation environnementale majeure et il est essentiel de les gérer correctement pour préserver la santé humaine et l'environnement (Otmani & Selmane, 2018).

## II.2 Classification des métaux lourds :

Les métaux lourds peuvent être classés en plusieurs catégories en fonction de leurs propriétés physiques et chimiques, ainsi que de leur toxicité pour l'environnement et la santé humaine. Voici quelques exemples de classification des métaux lourds :

- **Métaux lourds essentiels** : ces métaux sont nécessaires en quantités très faibles pour maintenir la santé humaine et animale, tels que le fer, le cuivre, le zinc, le manganèse et le sélénium. Ils peuvent devenir toxiques en excès.
- **Métaux lourds non essentiels** : ces métaux n'ont pas de fonction biologique connue dans le corps humain ou animal, tels que le plomb, le mercure, le cadmium et l'arsenic. Ils sont souvent plus toxiques que les métaux lourds essentiels.
- **Métaux lourds radioactifs** : ces métaux ont une radioactivité naturelle ou artificielle, tels que l'uranium, le thorium, le plutonium et le césium. Ils peuvent avoir des effets toxiques sur la santé humaine et l'environnement, en raison de leur émission de rayonnements.
- **Métaux lourds oxydants** : ces métaux peuvent causer des dommages cellulaires et tissulaires en raison de leur capacité à produire des radicaux libres, tels que le fer et le cuivre (Hemeir, 2015).

Il convient de noter que cette classification n'est pas exhaustive et qu'il existe d'autres façons de classer les métaux lourds en fonction de leurs propriétés et de leur toxicité.

## II.3 Origine des métaux lourds :

Les métaux lourds peuvent avoir des sources naturelles ou anthropiques (causées par l'activité humaine). Voici quelques exemples d'origine des métaux lourds (Vanobberghen, 2010) :

- **Sources naturelles** : les métaux lourds se trouvent naturellement dans l'environnement, dans les sols, les roches, les minéraux et les eaux souterraines. Leur libération peut être causée par des phénomènes naturels tels que l'érosion, les éruptions volcaniques, les mouvements tectoniques et les processus de formation de roches.
- **Sources anthropiques** : les activités humaines peuvent également libérer des métaux lourds dans l'environnement, notamment l'industrie, l'agriculture, l'exploitation minière, la production et l'utilisation de pesticides et d'engrais, la combustion de combustibles fossiles, les déchets électroniques et les déchets médicaux. Les métaux lourds peuvent être libérés sous

forme gazeuse, liquide ou solide, et être dispersés dans l'environnement par l'eau, l'air et les sols.

Il est important de noter que les sources anthropiques sont souvent les principales sources de contamination par les métaux lourds dans l'environnement. Les activités industrielles et minières, ainsi que l'utilisation de pesticides et d'engrais, sont souvent responsables de la pollution par les métaux lourds dans les zones urbaines et rurales (**Vanobberghen, 2010**).

#### **II.4 Les métaux lourds dans la plante :**

Les métaux lourds peuvent être absorbés par les plantes à travers leurs racines et leur feuillage. Les métaux lourds peuvent entrer dans les plantes sous forme de ions solubles ou sous forme de particules en suspension dans l'eau ou l'air. Une fois que les métaux lourds sont entrés dans les tissus de la plante, ils peuvent être transmis dans toute la plante via la sève. Les métaux lourds peuvent également s'accumuler dans certaines parties de la plante, telles que les racines, les feuilles ou les fruits (**Eshghi Malayeri, 1995**).

La capacité des plantes à absorber et à accumuler des métaux lourds dépend de plusieurs facteurs, notamment la composition chimique du sol, le pH du sol, la température, l'humidité, la durée d'exposition aux métaux lourds, et la présence d'autres éléments nutritifs ou toxiques. Certaines plantes ont une capacité accrue à absorber et accumuler des métaux lourds, ce qui les rend utiles pour la phytoremédiation (**Eshghi Malayeri, 1995**).

Cependant, l'accumulation de métaux lourds dans les plantes peut être toxique pour la plante elle-même, ce qui peut entraîner des symptômes tels que la chlorose, la nécrose, la croissance réduite et la mort prématurée. Les plantes qui sont exposées à des niveaux élevés de métaux lourds peuvent également transmettre ces métaux à d'autres organismes qui les consomment, tels que les animaux et les humains. Par conséquent, il est important de surveiller les niveaux de métaux lourds dans les plantes et de prendre des mesures pour éviter leur accumulation excessive dans les plantes destinées à la consommation humaine ou animale (**Eshghi Malayeri, 1995**).

## Chapitre II

### Généralités sur *Ballota hirsuta*

## I Description

*Ballota hirsuta* est une plante fructueuse d'environ 20 à 80 cm de hauteur, ligneuse à la base, avec des tiges de couleur marron et des poils simples millimétriques patents, fins ou laineux<sup>2</sup>, ainsi qu'avec des poils composés.

Les feuilles pétiolées, longues de 2 à 8 cm larges de 1,5 à 7 cm, sont de forme ovale à orbiculaire, aiguës à arrondies, cordées ou légèrement atténuées, avec de larges dents elliptiques généralement mucronées. Elles sont rugueuses sur la face supérieure et avec des veines marquées sur la face inférieure, plus ou moins densément poilues, les jeunes souvent veloutés, avec des poils simples, des poils glanduleux sur la marge et des poils étoilés, surtout sur les nervures de la face inférieure.

L'inflorescence est composée de 4 à 10 verticilles plus ou moins sphériques de 3 à 4 cm de diamètre. Les bractées, semblables aux feuilles mais à peine pétiolées, sont souvent recourbées et les bractéoles, de 2 à 9 mm, sont linéaires-spatulées, aiguës, nombreuses, parfois avec des poils glanduleux. Les fleurs sont sessiles, avec un calice de 1 à 1,5 cm, vert ou violet ; le tube de 6 à 7 mm comporte 10 veines et le limbe, à poils étoilés, comporte également 10 veines principales et une veine réticulée à l'intérieur ; il y a environ 10 à 20 dents, parfois réduites en mucrons. La corolle, de 13 à 18 mm, est pourpre rougeâtre, avec des rayures longitudinales blanchâtres, un tube centimétrique, une lèvre supérieure bifide, rarement tétralaciniée, dressée, généralement un peu concave, très poilue, et une lèvre inférieure à 3 lobes, le central plus grand, recourbé vers le bas et généralement émarginé. Les fruits sont des nucules de 2,5 sur 1,5 mm, ovoïdes, subtrigones, aigus, finement alvéolés, de couleur brune (Kechar, 2016).



**Figure 2 :** *Ballota hirsuta* Benth. (ZAHNIT, et al., 2022).



**Figure 3** : Les différents organes du *B. hirsuta* (ZAHNIT, et al., 2022).

## II Classification

La classification de *Ballota hirsuta* est présentée dans le tableau 1 :

**Tableau 1** : Classification de *Ballota hirsuta* (Kechar, et al., 2016).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Clade	Eu-dicotylédones
Clade	Asterideae
Clade	Astéridées 2 hypogynes
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Ballota</i>
Espèce	<i>Ballota hirsuta</i> Benth.

### III Répartition géographique du genre *Ballota*

#### III.1 Dans le monde :

Il y a environ 33 espèces de genre *Ballota* qui sont présentes dans les régions tempérées de l'Europe, de l'Afrique du Nord et de l'Asie occidentale avec une diversité plus élevée dans la région méditerranéenne (Citoglu et al., 1998 ; Seidel et al., 1999).

#### III.2 En Algérie :

Selon Quezel et Santa (1963), le genre *Ballota* est représenté par seulement 2 plantes vivaces répandues en Algérie et qui sont illustrées dans le tableau 2 :

**Tableau 2 : Localisation** et principaux caractères des espèces du genre *Ballota* localisées en Algérie.

Espèce	Découverte par	Localisation	Principaux caractères
<i>B. nigra</i>	Linné	Très commune dans dans toute l'Algérie.	Calice en entonnoir à 5 dents très courtes, un peu étalées en dehors. Tiges herbacées. Feuilles toutes pétiolées dentées.
<i>B. hirsuta</i>	Benth.	Assez commune dans : le secteur oranais, secteur de l'Atlas Saharien, secteur du Sahara Septentrional et le secteur du Sahara Septentrional.	Calice à limbe foliacé largement rotacé réticulé multifide, à 5 dents principales. Feuilles supérieures sessiles à dents très obtuses. Corolle rosée à lèvre supérieure bifide.

### IV Comment cultiver

La *Ballota hirsuta* se plante de préférence à l'automne. Elle tolère néanmoins une plantation au printemps. Puisqu'elle supporte mal l'humidité, notamment caractéristique durant la période hivernale qui s'étend de novembre à mars, il faut prendre garde à la planter dans un sol drainant et, qui plus est, sur un terrain ensoleillé. Notez cependant qu'elle tolère bien les sols calcaires et qu'elle ne craint pas les embruns. De la même manière, elle résiste à la sécheresse, d'où son intérêt en rocaille, car son feuillage saurait contribuer à y protéger ses

congénères. Pour procéder à la plantation de la *Ballota hirsuta*, faites un trou de 30 x 30 cm. Saisissez-vous ensuite de votre plant. Griffez-en la motte à l'aide d'une fourchette afin de réduire quelque peu la quantité de terre. Il ne vous reste plus qu'à placer votre *Ballota* bien droite dans le trou et à reboucher celui-ci, et ce sans ajout quelconque de compost ou d'engrais. Arrosez votre plan de 2 à 3 litres d'eau. Enfin, paillez le pied de votre plante. Pour cela, vous pouvez utiliser aussi bien des copeaux de bois que de la paille de chanvre.

Par sa rusticité, la *Ballota hirsuta* ne demande que très peu d'entretien. Au besoin, retirez les fleurs après floraison en les pinçant. Ce faisant, votre plant restera épais et dense. Vous pouvez également couper les hampes florales si elles viennent à sécher. Tout au plus, ajoutez de l'engrais tous les 2 ans et divisez votre plante tous les 4 ans si vous la cultivez en pot (Geslot, 2015).

# Chapitre III

## Physiologie de la germination

## I Définition

La germination est une étape physiologique du développement au cours de laquelle l'embryon, inclus dans la graine, cesse son état de vie ralentie et devient capable à se développer pour donner naissance à une nouvelle plante. Du point de vue physiologique, la germination s'achève lorsque la radicule perce le tégument ; elle se limite alors à l'arrêt de la vie ralentie et aux remaniements biochimiques et physiologiques qui vont permettre la croissance de l'embryon (Aya *et al.*, 2011).

## II Les différents types de germination

Toutes les graines ne germent pas de la même manière ;

### II.1 Germination d'une monocotylédone :

La radicule sort de la graine après avoir percé le coléorhize ; la coléoptile de son côté se dirige vers la surface avec en son sein la feuille qu'il protège des agressions du sol. Une fois à l'air libre, il arrête sa croissance, et la feuille qui en sort se développe. Le cotylédon, ici appelé en réalité le scutellum, reste dans la graine ; son rôle est de nourrir la coléoptile pendant son développement. La première feuille donnera naissance aux suivantes (Bouziid, 2016).

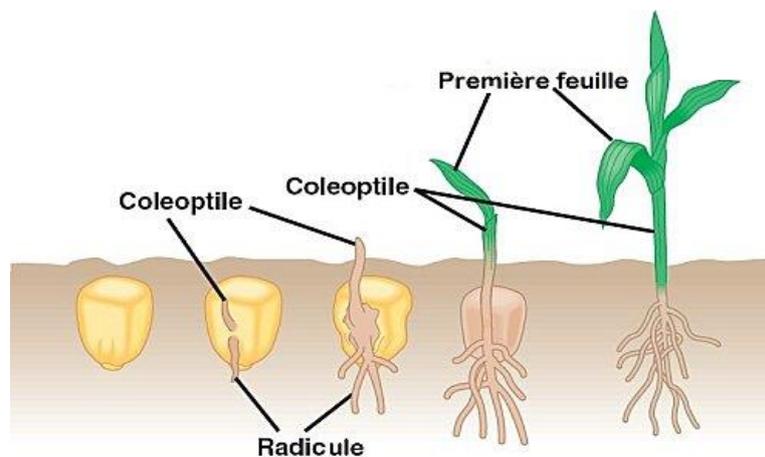


Figure 4 : Germination de graine monocotylédone.

## II.2 Germination d'une dicotylédone :

La radicule sort de la graine et se dirige vers le bas pour former les futures racines ; elle se prolonge vers la graine par la tigelle devenue hypocotyle (signifie : sous le cotylédon) ; dans le cas représenté dans la fig.14, cet hypocotyle se développe et tire avec lui vers la surface le reste de la graine, principalement constituée des cotylédons. Une fois à l'air libre, les cotylédons s'étalent et rapidement, la première vraie feuille apparaît. La principale différence entre ces deux germinations réside dans le fait que la monocotylédone produit une coléoptile, sorte de fourreau qui protège la première feuille jusqu'à l'air libre (Aya *et al.*, 2011).

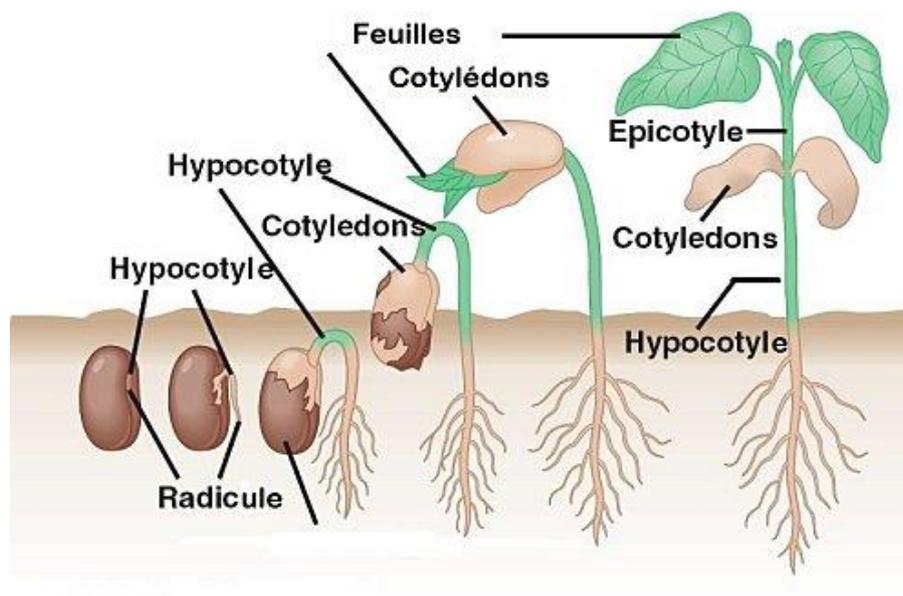
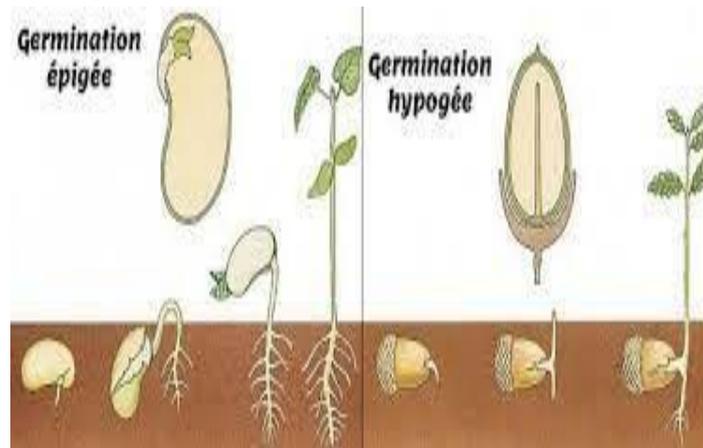


Figure 5 : Germination de graine dicotylédone.

## II.3 Germination hypogée ou épigée :

Les schémas ci-dessus nous montrent que les cotylédons du haricot sortent à l'air libre alors que le cotylédon du maïs reste en terre.... Pourtant, ce n'est pas cette différence qui est mise en avant pour qualifier les différences en termes de germination et pour cause : la germination des dicotylédones peut être aussi hypogée, c'est à dire que les cotylédons peuvent parfois aussi rester sous le niveau du sol. Pour cette raison, nous devons encore différencier les germinations hypogées (lorsque les cotylédons restent sous le niveau du sol) et épigées (lorsque, comme dans notre exemple du haricot, les cotylédons se développent à l'air libre et donc au-dessus du niveau du sol) (BABE S'IDE *et al.*, 2017).



**Figure 6 :** Germination hypogée et épigée.

### III Physiologie de la germination

La germination des graines comprend trois principales phases :

#### III.1 Phase 1 :

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

#### III.2 Phase 2 :

Encore appelée phase de germination sensu stricto, est caractérisé par une stabilisation de l'hydratation et de l'activité respiratoire à un niveau élevé (**Hopkins, 2003**). Durant cette phase, la graine peut être réversiblement hydratée et réhydratée sans dommage apparemment pour sa viabilité (**Heller *et al.*, 2004**).

Elle est caractérisée par une diminution de l'entrée d'eau ; l'hydratation des tissus et des enzymes est totale. La consommation en oxygène est stable. Durant cette phase, il y a reprise de la respiration et des activités métaboliques. La présence d'eau et d'oxygène permet l'activation des processus respiratoires et mitotiques. L'eau rend mobiles et actives les phytohormones hydrosolubles en stock dans la graine. C'est le cas des gibbérélines qui sont véhiculées vers la couche à aleurones où elles vont activer la synthèse d'hydrolases (telles que les  $\alpha$ -amylases, les nucléases ou les protéinases) nécessaires à la dégradation des réserves, à la division et l'élongation cellulaire.

- Les  $\alpha$ -amylases hydrolysent l'amidon stocké dans l'albumen et libèrent des molécules de glucose, substrat du métabolisme respiratoire.
- Les nucléases permettent la libération d'acides nucléiques impliqués dans la formation des cytokinines, hormones qui stimulent la division cellulaire.
- Les protéinases lysent les réserves protéiques qui favorisent la formation de phytohormones telles que l'auxine responsable de l'élongation des cellules.

La phase de germination au sens strict se termine avec la percée du tégument par la radicule, rendue possible grâce à l'allongement des cellules (Heller *et al.*, 2004).

### III.3 Phase 3 :

Caractérisée par une reprise de l'absorption d'eau et une élévation de la consommation d'oxygène qui serait due aux enzymes néosynthétisées, puis très rapidement, on assiste à une reprise des divisions et grandissement cellulaires. A ce stade, la déshydratation des tissus cause la mort des semences. La germination est terminée lorsque la radicule émerge les téguments de la graine (Hopkins, 2003).

## IV Conditions de la germination

### IV.1 Conditions internes :

Lorsque des graines arrivent à maturité et sont placées dans des conditions optimales de température, d'humidité, pour leur croissance et qu'elles ne germent pas, plusieurs causes sont à envisager : la dormance de l'embryon ou les inhibitions de germination.

Conditions internes de la germination concernent la graine elle-même, qu'elle doit être vivante, mure, apte à germer (non dormante) et saine (Djenndee *et al.*, 2019).

### IV.2 Conditions externes :

La graine exige la réunion des conditions extérieures favorables à savoir l'eau, l'oxygène, la température et la lumière.

#### IV.2.1 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 des réserves de la graine, pour être utilisée par l'embryon, et provoque le gonflement de leurs cellules, donc leur division (Zahi *et al.*, 2019).

#### IV.2.2 Oxygène :

La présence d'oxygène permet l'activation des processus respiratoires et mitotiques (Anzala, 2006), l'oxygène est contrôlé par les enveloppes qui constituent une barrière, mais en même temps une réserve.

#### IV.2.3 Température :

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 rendant la germination impossible (Heller *et al.*, 2004).

#### IV.2.4 Lumière (photosensibilité des semences) :

La lumière qui agit de manière différente sur les espèces. Elle inhibe la germination des espèces photosensibles négatives et stimule les photosensibles positives (Anzala, 2006).

### V Différent obstacle de la germination

#### V.1 Dormance embryonnaire :

Dans ce cas les inaptitudes à la germination résident dans l'embryon et constituent les véritables dormances. L'embryon peut être dormant au moment de la récolte des semences on appelle « dormance primaire ». Dans d'autre cas, l'embryon est capable de germer mais il perd cette aptitude sous l'influence de divers facteurs défavorables à la germination on parle alors de « dormance secondaire » (Djenndee *et al.*, 2019).

#### V.2 Inhibitions tégumentaires :

Les dormances tégumentaires peuvent provenir : d'une imperméabilité à l'eau ou à l'oxygène ou aux deux, c'est le cas des « graines dures ».

La levée de l'inhibition tégumentaire des graines constitue un facteur adaptatif important pour la survie de l'espèce, puisqu'elle permet le maintien d'un stock de graine et leurs viabilités dans le sol.

Les inhibitions tégumentaires peuvent être facilement définies par :

- Totalement imperméable à l'eau.
- Les enveloppes séminales ne sont pas suffisamment perméables à l'oxygène.
- Des enveloppes trop résistants pour que l'embryon puisse les rompre (Mazliak, 1982).

**V.3 Dormance morphologique :**

La dormance morphologique est due à la présence d'un embryon sous développé au moment de la dissémination des graines. La germination ne peut avoir lieu tant que l'embryon n'est pas arrivé au terme de sa croissance (**Djenndet *al.*, 2019**).

**V.4 Inhibitions chimiques :**

Les inhibitions chimiques sont certainement plus rares dans les conditions naturelles.

Leur nature exacte reste généralement inconnue, car elles n'ont pas souvent été isolées (**Mazliak, 1982**).

# Chapitre IV

## 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 (figure 7) en vue d'étudier l'effet du Plomb (Pb) et du Chrome (Cr) sur la germination des graines du *Ballota hirsuta*.



Figure 7 : Site d'expérimentation

## II Présentation de la zone de récolte des graines

### Origine des graines :

Les graines étudiées dans cette expérimentation sont celles de *Ballota hirsuta* d'origine de Sidi Bel abbés (ouest algérien, Fig. 8).

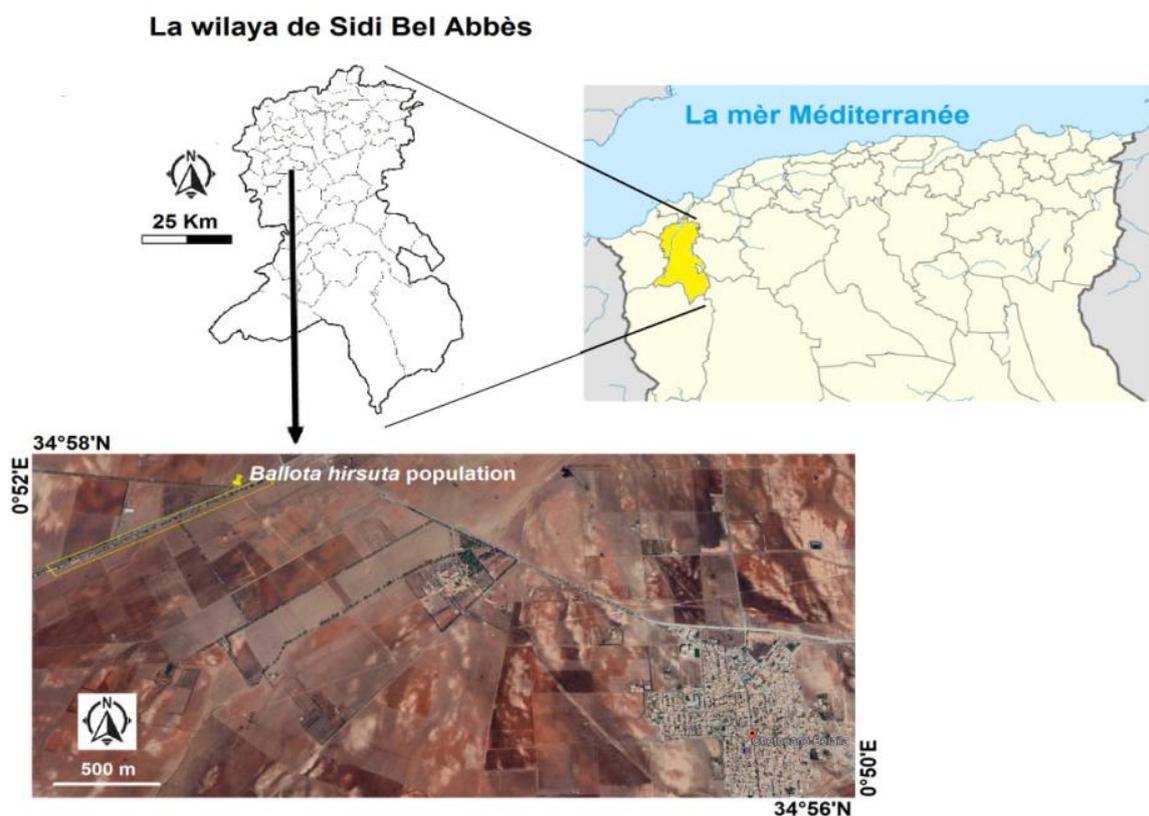


Figure 8 : Lieu de la récolte (google earth 2023).

### III Matériels utilisés

- les grains de *Ballota hirsuta*
- l'eau distillé.
- Spectrophotomètre.
- Micropipette.
- Réactif de Bradford.
- Sulfate de plomb.
- Sulfate de chrome.
- Papier absorbant.
- Boites pétries.
- Ciseaux.
- Etiquette.
- Centrifugeuse.
- Tris- Hcl 8,1.
- Les tubes plastiques.
- Parafilm (fermeture des boites)
- Une balance
- Mortier.
- Agitateur.

#### III.1 Traitement des graines

Avant de la mise en germination des graines, on a effectué une série de désinfection selon le protocole expérimental suivant :

- Placer toutes les graines dans une boîte pétrie vide et propre.
- Effectuer un premier rinçage, ou on doit imbiber les graines avec une solution de 45 ml H<sub>2</sub>O (90%) + 5ml NaOCl (10%) et laisser agir pendant 10 minutes.

- Avec une micropipette on prélève la solution jusqu'à ce que la boîte ne contienne que les graines de *Ballota hirsuta*.
- Effectuer un deuxième rinçage de 3 fois de suites, en utilisant de l'eau distillée afin d'éliminer complètement la solution de l'hypochlorite de sodium.
- Laissez les grains sécher pendant 2 heures.



**Figure 9 :** graines de *Ballota hirsuta* après rinçage et désinfection.

### III.2 Préparation des solutions de métaux lourds

Préparation des solutions de métaux lourds, du Chrome (Cr), et du Plomb (Pb) en utilisant de la forme solide (S) de ces métaux disponibles au niveau du laboratoire.

Pour ce travail, nous avons préparé des concentrations de 50, 100, 150, 200, 300 ppm. En utilisant une balance électronique (figure 10), le pesage doit suivre la loi suivante  $1 \text{ ppm} = 1 \text{ mg}/1000 \text{ mL}$

Pour les concentrations

50 ppm : 5mg (s)/ 100ml eau distillé

100 ppm : 10mg (s)/ 100ml eau distillé

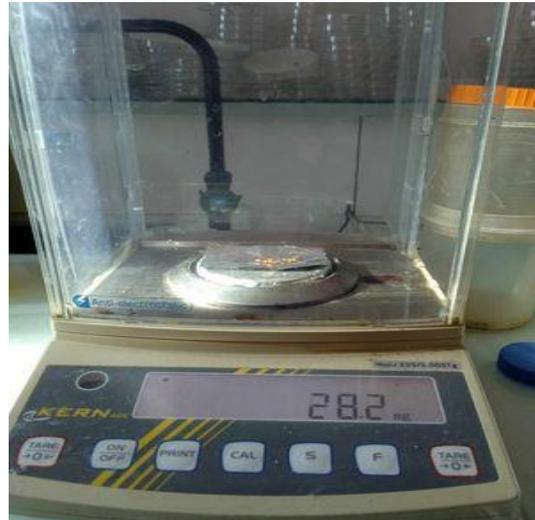
150 ppm : 15mg (s)/ 100ml eau distillé

200 ppm : 20 mg (s)/ 100ml eau distillé

300 ppm : 30 mg (s)/ 100ml d'eau distillé.

On utilise une fiole jaugée, après obtention de volume de 100 ml d'eau distillé, on mélange avec le solide déjà pesé.

On obtient toutes les solutions par répétition du même protocole.



**Figure 10 :** balance à haute précision utilisée pour les pesages.

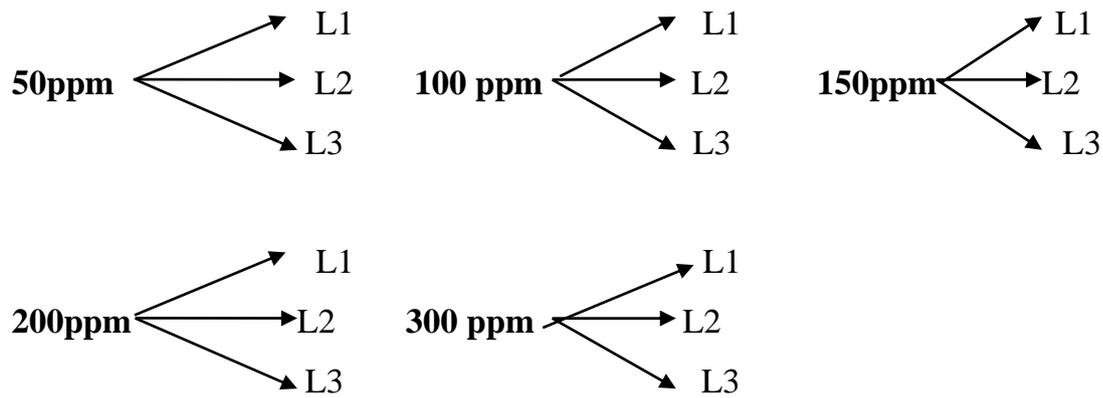
### III.3 Répartition des graines

Pour effectuer notre travail, nous avons utilisé un total de 33 boîtes de pétri. Parmi elles, 15 étaient destinées aux échantillons de Pb (Plomb), 15 étaient réservées aux échantillons de CR (Chrome), et les 3 restantes étaient des témoins. Afin d'assurer une organisation précise, nous avons tapissé la partie inférieure de chaque boîte de pétri avec du papier absorbant. Sur ce papier, nous avons soigneusement noté la concentration et le métal contenu dans chaque échantillon.



**Figure 11 :** méthode d'étiquetage.

La répartition des graines a suivi les concentrations des métaux lourds sélectionnés de notre expérience et l'étiquetage de ces boîtes. Pour chaque concentration et dans chaque un des ML, nous les avons répartis en 3 lots (L1, L2 et L3) pour obtenir :



En faisant une répartition équitable des graines, à l'aide d'une pince, nous avons mis dans chaque boîte 25 graines de *Ballota hirsuta*.

Après répartition, nous avons fait un apport, dans chaque boîte de Pétrie, d'un volume de 7 mL des concentrations différentes de chaque ML.



**Figure 12 :** Traitement des graines de *Ballota hirsuta* par la solution de chrome.

Nous avons assuré un bon scellage des boîtes de Pétrie avec du parafilm pour éviter toute perte d'eau. Pour la mise en germination, nous avons placé toutes les boîtes dans une étuve réglée à 20 °C (fig. 13 et 14).



**Figure 13 :** boîtes de Pétri prêtes à être placée dans l'étuve.



**Figure 14 :** l'étuve.

## **IV Comptage et mesure des graines**

Durant 20 jours de germination on a fait un comptage toutes les 48 heures pour effectuer un dénombrement des graines germées (la percé de la radicule).

## **V Traitement des donnés**

La germination des graines est exprimée par les paramètres suivants :

-La durée de germination (DG) : c'est le nombre de jours pour l'achèvement de la germination

-La cinétique de germination estimée en % des taux cumulés des graines germées.

-La vitesse de germination, exprimée en temps moyen de germination (TMG) évaluée en jours.

### V.1 Taux final de germination :

La germination est notée par comptage effectué tous les deux jours, jusqu'au 20 ième jour. Le pourcentage de graines germées est déterminé par le rapport entre le nombre des graines qui ont émergé une radicule d'une taille d'environ 2 mm sur le nombre total de graines incubées (Allen et Alvarez, 2019), d'où :

$$G(\%) = \left( \frac{NGG}{NTG} \right)$$

G (%) : est le pourcentage de germination.

NGG : est le nombre des graines germées

NTG : est le nombre total des graines incubées.

### V.2 La cinétique de la germination

La cinétique de germination est une courbe de germination qui décrit le déroulement de la germination du lot de semences considéré placé dans des conditions bien précises. Elle représente le plus souvent l'évolution des pourcentages de germination cumulés en fonction du temps. Cette cinétique est établie à partir des taux cumulés de graines germées c'est-à-dire la variation des taux de germination en fonction du temps exprimé en jour.

### V.3 Vitesse de germination

La vitesse de germination est définie selon Côme (1970) comme étant le temps mis par les semences pour germer ; elle peut s'exprimer par un pourcentage, un temps ou un coefficient. Nous l'avons exprimée en taux selon la relation de Kotowski (1926) :

$$TMG = \frac{N1T1 + N2T2 + N3T3 \dots NnTn}{N1 + N2 + N3 + \dots Nn}$$

N1 : nombre de graines germées au temps T1

N2 : nombre de graines germées entre T1 et T2

#### V.4 Mesure des paramètres de croissance

En arrivant au dernier jour du comptage, on a ouvert les boîtes pétries et on a pris d'une manière aléatoire 3 pousses émergées dans chaque lot pour mesurer la taille de la radicule et de l'hypocotyle. L'estimation de la taille de ces derniers a été effectuée à l'aide d'un papier millimétrique

#### V.5 Indice de vigueur des pousses

L'indice de vigueur des pousses (IVP) a été calculé selon la méthode donnée par Abdel-Baki and Anderson (1970)

$$\text{IVP} = (\text{taille moyenne de l'hypocotyle} + \text{taille moyenne de la radicule}) \times \text{PFG}$$

#### V.6 Extraction et dosage des protéines

##### - Extraction :

1- nous avons pesé 20 mg de feuille puis nous les avons mis dans un mortier et ajouter 2 ml de tampon tris-Hcl à pH 8,1.



Figure 15 : Une balance pour peser la matière végétale.



**Figure 16 :** Mortier pour broyer la matière végétale.

2- après les avoir broyés nous avons transféré le liquide dans des tubes en plastique.



**Figure 17 :** Tube en plastique contenant la solution.

4-après nous les avons centrifugés à 1300tr/mn pendant 10mn.



**Figure 18 :** centrifugeuse utiliser lors de la séparation de surnageant et le culot.

**- Dosage :**

- 1- nous avons utilisé une micropipette pour prélever 0.5ml du surnageant contenant les protéines
- 2- ce surnageant a été transféré avec précaution dans des tubes de verre propres est sec on a ajouté 3 ml de réactif de Bradford afin de garantir un mélange homogène.
- 3- nous avons utilisé un agitateur pour agiter la solution dans chaque tube.



**Figure 19 :** Tubes en verre pour l'incubation du surnageant.

- 4- après une période d'incubation de 24 heures nous avons mesuré la l'absorbance de la solution (au D.O. 595 nm).



**Figure 20 : Spectrophotomètre pour la lecture de la densité.**

5- nous avons effectué l'étalonnage du spectrophotomètre en préparant un blanc ce blanc a été obtenu en mélangeant 500 ml d'eau distillée avec 3 ml de réactif de Bradford.

Le blanc nous permis d'établir une référence pour la lecture de la densité optique de la solution sans protéine.

### **V.7 Analyse statistique**

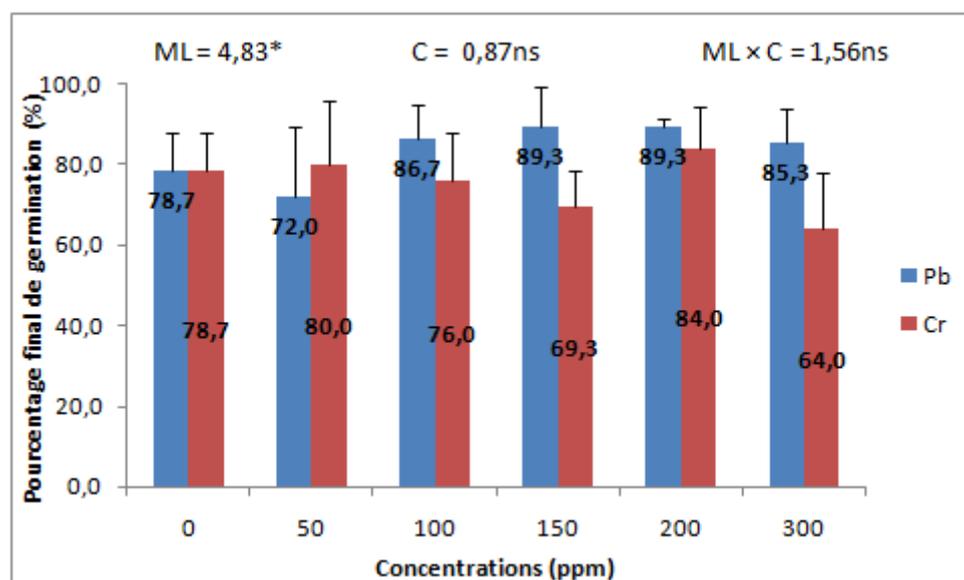
Pour chacun des essais appliqués, les résultats obtenus sur trois répétitions à raison de vingt graines par boîte de Pétri sont statistiquement analysées par le logiciel SPSS pour Windows, version 22. Une analyse de la variance à deux facteurs (ANOVA II) a été effectuée pour la comparaison de plusieurs moyennes.

# Chapitre V

## Résultat et discussion

## I Effet du Pb et Cr sur les paramètres de germination des graines de *Ballota hirsuta*

La figure 21 présente le pourcentage finale de germination des graines de *Ballota hirsuta* soumises à différentes doses métalliques (50, 100, 150, 200 et 300 ppm) pendant 20 jours. Nous avons remarqué que le pourcentage chez les témoins atteint (78,7%); alors que le pourcentage de germination le plus élevé (89,3%) a été obtenu à 150 et 200 ppm de Pb, par contre le pourcentage le plus faible (64,0%) a été enregistré pour 300 ppm Cr. À part la plus basse concentration (50 ppm), les graines traitées par le Pb affiches une tolérance plus grande par rapport au Cr dans le reste des concentrations sélectionnées.

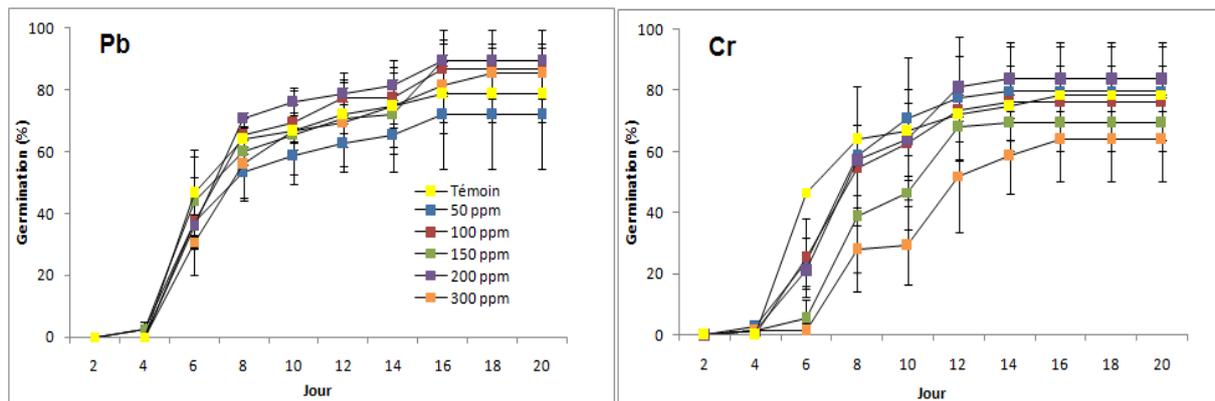


**Figure 21** : Effet du Pb et Cr sur le pourcentage final de germination des graines de *Ballota hirsuta* soumises à différentes doses métalliques.

Les résultats de l'analyse de variance (ANOVA II) indiquant les effets des métaux lourds (ML), des concentrations (C) et de leurs interactions (ML x C) sur le PFG sont également donnés. Où, les nombres indiquent les valeurs F ; ns : différence non significative et \* :  $P < 0.05$ .

Pour mieux appréhender la signification physiologique du comportement germinatif de l'espèce étudiée, le nombre de graines germées ont été compté chaque deux jours jusqu'au 20<sup>ème</sup> jour de l'expérience (la fin du comptage).

La figure 22 présente l'évolution de la germination de notre espèce en fonction du temps pour l'ensemble des deux métaux sélectionnés. Les résultats montrent que les courbes relatives aux taux de germination des graines traitées par le Pb la cinétique de la germination généralement a déclenché au bout du 4<sup>ème</sup> jour, y compris le témoin. Par contre, pour les graines stressées par le Cr, la germination prenait juste six jours pour se déclencher. Pour les deux MLs utilisés, le maximum du temps final de germination a été noté chez les graines soumises à 300 ppm Pb (18 jours).

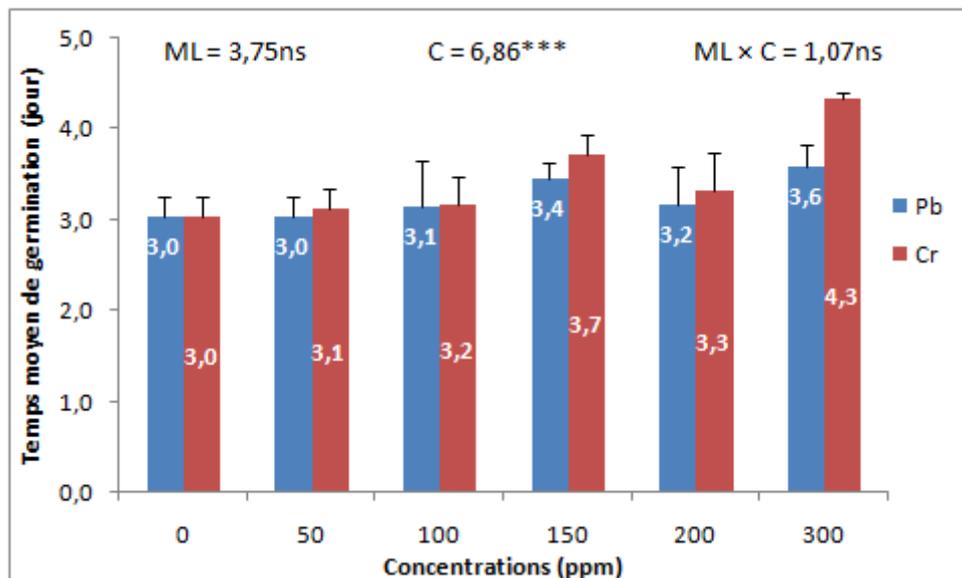


**Figure 22 :** Effet du Pb et Cr sur la cinétique de la germination de des graines de *Ballota hirsuta*.

Les tests de germination et de début de croissance des plantes sont les deux premières étapes largement utilisées pour évaluer les effets phytotoxicologiques des MLs sur différentes espèces végétales (**Kranner and Colville 2011**). Dans toutes les concentrations utilisées, le Pb et le Cr n'ont pas réduit significativement la germination ( $P > 0,05$  ; annexe 1), ce qui indique que ces deux métaux lourds n'ont probablement aucun effet néfaste sur l'activité respiratoire et la mobilisation des réserves des graines telles que l'amidon, les protéines et le phytate (**Bishnoi et al. 1993**). Contrairement à nos résultats, **Abraham et al. (2013)** ont indiqué que l'exposition des graines d'*Arachishypogaea* à des concentrations croissantes de Pb (0, 75 et 100 ppm) réduisait significativement le pourcentage de germination. Egalement, **Li et al. (2005)** ont signalé que la faculté germinative des graines d'*Arabidopsis thaliana* écotype Columbia était affectée négativement par le Pb fournis sous forme de sels de chlorure.

Une augmentation dans concentration améliore significativement le TMG ( $P < 0,001$  ; annexe 2). La valeur minimale (3 jours) de ce paramètre a été notée pour le témoin, tandis que

le maximum de TMG a été enregistrée chez les graines stressées par 300 ppm de Cr (4,3 jours). Nous avons constaté aussi que 50 ppm de Pb a une valeur similaire aux graines qui n'ont ressue aucun traitement. La phytotoxicité des MLs est influencée par de nombreux facteurs tels que (1) le type de ML, (2) les espèces végétales, (3) le stade de développement et (4) la durée d'exposition aux MLs (**Kranner et Colville 2011**). Dans la présente étude, l'application de Pb et de Cr a affecté négativement le TMG des graines de *B. hirsuta*.



**Figure 23 :** Effet du Pb et Cr sur le temps moyen de germination des graines de *Ballota hirsuta* soumises à différentes doses métalliques.

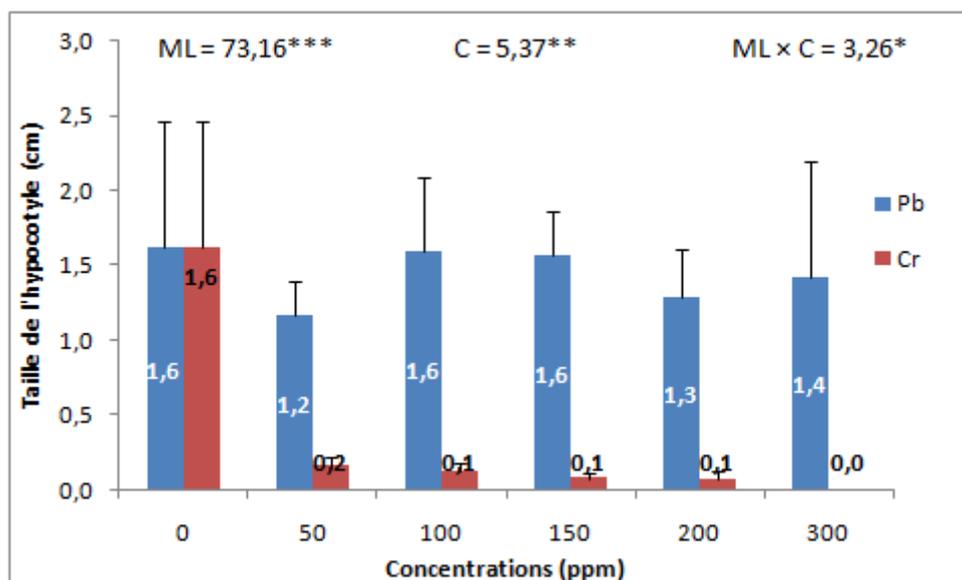
Les résultats de l'analyse de variance (ANOVA II) indiquant les effets des métaux lourds (ML), des concentrations (C) et de leurs interactions (ML x C) sur le TMG sont également donnés. Où, les nombres indiquent les valeurs F ; ns : différence non significative et \*\*\* :  $P < 0.001$ .

Une espèce végétale peut moduler métaboliquement les éléments non essentiels et réguler l'apport de micronutriments ; cela conduit à la tolérance et permet aux plantes de croître et d'évoluer dans un environnement pollué avec de fortes concentrations de ML (**Gonzalez-Mendoza et Zapata-Perez, 2008**). L'augmentation du TMG et l'allongement de la germination dans des conditions de stress métallique peuvent être attribuées au temps pris par les graines pour ajuster leurs activités métaboliques. Nos résultats corroborent l'étude menée par **Munzuroglu et Geckil (2002)** qui ont rapporté que les semences traitées avec divers MLs diminuent la vitesse de germination de *Cucumissativus*. De même, **Curguz et al. (2012)** ont révélé que la cinétique de germination de *Picea abies* a été terriblement affectée par

l'application de ML, bien qu'ils aient utilisé des niveaux de concentration en métal plus faibles. De plus, Nedjimi (2020) a noté que le Pb et le Cr ont eu un impact dramatique sur la vitesse de germination des graines de *Peganumharmala*.

## II Effet du Pb et Cr sur les paramètres de croissance des pousses de *Ballota hirsuta*

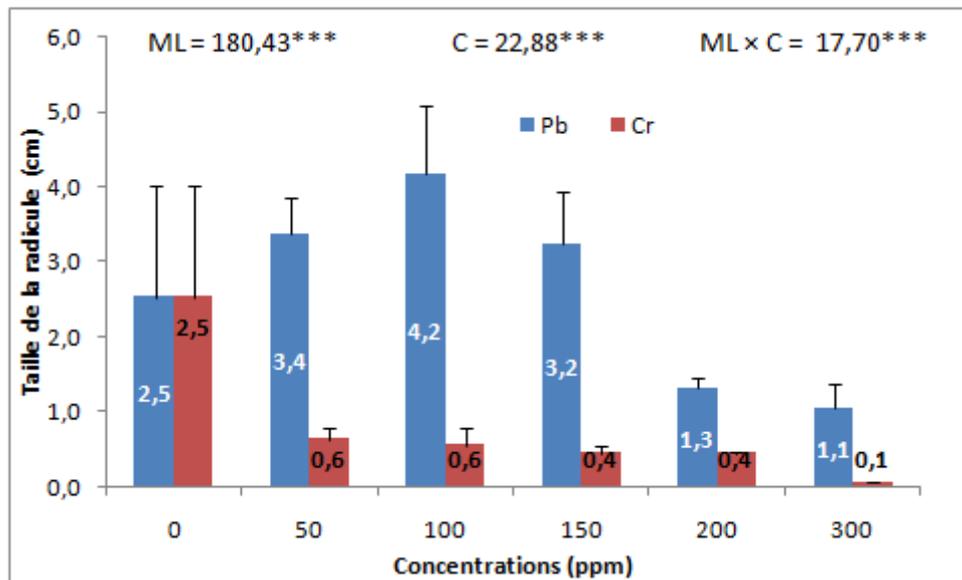
L'effet du Pb et de Cr sur les paramètres de croissance (taille de l'hypocotyle et la racicule) sont représentés dans les figures 4 et 5. L'analyse statistique a révélé une différence significative des MLs, les concentrations utilisées et leur interaction ( $P < 0,05$  ; annexes 3 et 4) sur le développement des plantules. La valeur maximale de l'hypocotyle est de 1,6 cm enregistrée chez le témoin. Pour les lots traités par le Pb, la taille de l'hypocotyle variait entre 1,6 cm à 1,2 cm ; tandis que pour les pousses qui se sont développées dans la présence du Cr, nous avons remarqué que les valeurs de l'hypocotyle ne dépassaient pas 0,2 cm.



**Figure 24 :** Effet du Pb et Cr sur la taille de l'hypocotyle des pousses de *Ballota hirsuta* soumises à différentes doses métalliques.

Les résultats de l'analyse de variance (ANOVA II) indiquant les effets des métaux lourds (ML), des concentrations (C) et de leurs interactions (ML x C) sur le TH sont également donnés. Où, les nombres indiquent les valeurs F ; \* :  $P < 0,05$  ; \*\* :  $P < 0,01$  et \*\*\* :  $P < 0,001$ .

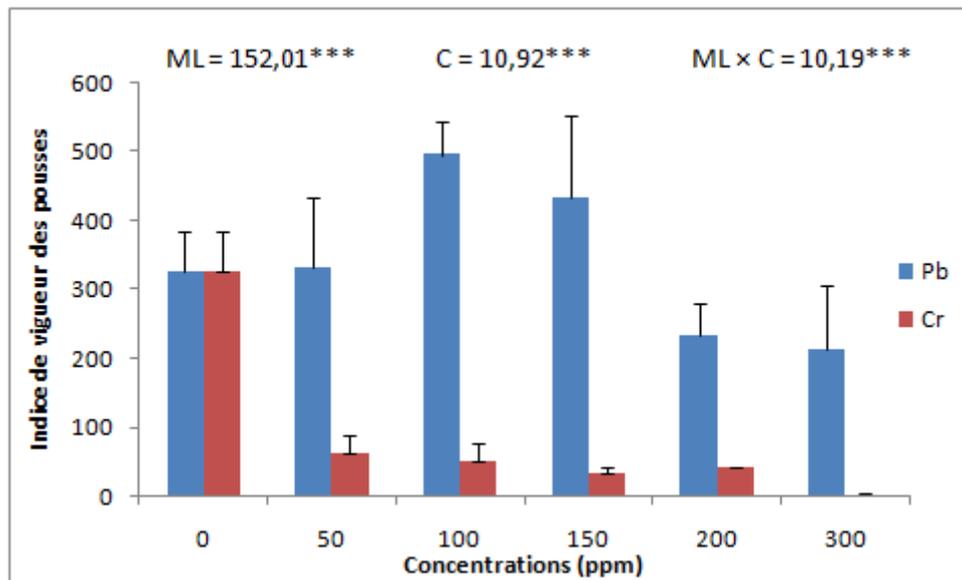
Les tailles maximum des racines ont été enregistrées pour les lots stressés par 100 ppm Pb. Au-delà de cette concentration, nous avons constaté un effet dépressif de ce métal qui a été traduit par une chute considérable des valeurs. D'une manière surprenante, même le témoin et les pousses stressées par 50 ppm de Pb ont développé des racines avec une croissance inférieure par rapport à 100 ppm. Pour les lots traités avec le Cr, nous avons remarqué une chute brusque dans le développement de la racine et celui-ci a compté dès la plus faible dose (50 ppm ; TR = 0,6 cm)



**Figure 25 :** Effet du Pb et Cr sur la taille de la racine des pousses de *Ballota hirsuta* soumises à différentes doses métalliques.

Les résultats de l'analyse de variance (ANOVA II) indiquant les effets des métaux lourds (ML), des concentrations (C) et de leurs interactions (ML x C) sur le TR sont également donnés. Où, les nombres indiquent les valeurs F ; \*\*\* :  $P < 0.001$

A partir de l'analyse de la variance nous avons noté que les métaux lourds utilisés, les concentrations sélectionnées et leurs interactions ont un effet hautement significatif sur l'indice de vigueur des pousses ( $P < 0,001$  ; annexe 5). Cet indice a été plus influencé par le Cr que par le Pb. Des valeurs minimales de vigueur des pousses ont été notées chez les lots qui ont reçu une concentration de 300 ppm pour les deux métaux. Le maximum de cet indice a été enregistré à 100 ppm de Pb (Fig. 25).



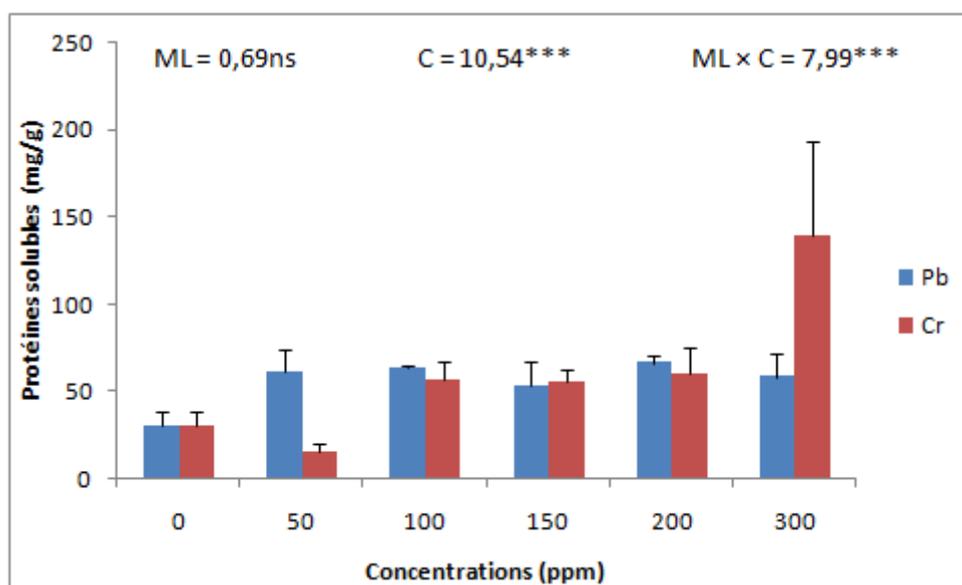
**Figure 26 :** Effet du Pb et Cr sur l'indice de vigueur des pousses de *Ballota hirsuta* soumises à différentes doses métalliques.

Les résultats de l'analyse de variance (ANOVA II) indiquant les effets des métaux lourds (ML), des concentrations (s) et de leurs interactions (ML x C) sur le TMG sont également donnés. Où, les nombres indiquent les valeurs F ; \*\*\* :  $P < 0.001$ .

L'élongation des hypocotyles et des racines est largement utilisée pour évaluer l'impact toxique des métaux et métalloïdes sur les plantules (El Rasafi et al., 2016). Le présent rapport a montré que le Cr, sous forme de ( $K_2Cr_2O_7$ ), était le ML le plus toxique sur la croissance de l'hypocotyle et de la racine de *B. hirsuta* par rapport au Pb. Contrairement à nos résultats, Nedjimi (2020) a indiqué que le Pb était plus inhibiteur que le Cr en ce qui concerne la germination et la croissance initiale des plantules de *Peganumharmala*. Bien que les effets toxiques d'un excès de Cr soient évidents tout au long du cycle de vie d'une plante, la germination des graines et le stade de croissance précoce sont considérés comme les plus sensibles, en particulier à la toxicité du chrome (Ahmad et al. 2009). L'effet agressif du Pb sur la taille des pousses est probablement dû soit à une prévention de l'absorption de l'eau, du dysfonctionnement de la membrane cellulaire ou de l'interaction avec de nombreuses enzymes nécessaires à la croissance normale des semis (Nagajyoti et al. 2010).

### III Effet du Pb et Cr sur la synthèse des protéines soluble

A partir de l'analyse de la variance nous avons noté que les métaux lourds utilisés n'ont pas d'effet significative ( $F = 0,69$  ;  $P > 0,05$ ) sur la synthèse des protéines chez notre espèce. La synthèse des protéines est vraisemblablement significative avec la variation en concentration ( $F = 10,54$  ;  $P < 0,001$ ) ainsi que l'interaction entre ML et C ( $F = 7,99$  ;  $P < 0,001$  ; annexe 6). Cela nous indique que les deux métaux sélectionnés ont presque les mêmes effets sur ce paramètre mesuré (Fig. 28), malgré que la valeur la plus importante a été notée pour les pousses traitées par 300 ppm Cr ( $\approx 140$  mg/g MVF).

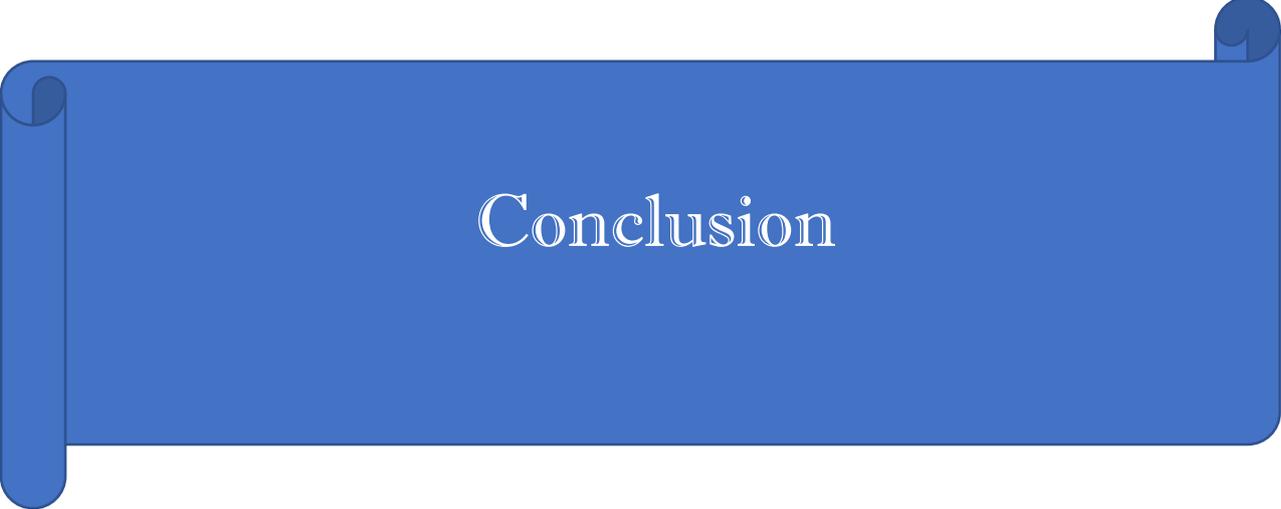


**Figure 27** : Effet du Pb et Cr sur la synthèse des protéines solubles des pousses de *Ballota hirsuta* soumises à différentes doses métalliques.

Les résultats de l'analyse de variance (ANOVA II) indiquant les effets des métaux lourds (ML), des concentrations (s) et de leurs interactions (ML x C) sur le PS sont également donnés. Où, les nombres indiquent les valeurs F ; ns : différence non significative et \*\*\* :  $P < 0,001$ .

Il a été rapporté que la toxicité des MLs retarde l'émergence des pousses via une teneur accrue en protéines et en glucides, affectant l'activité des peroxydases et des polyphénol oxydases, la capacité oxydante des racines et la diminution globale des enzymes métabolisant les glucides -  $\alpha$ -amylases,  $\beta$ -amylases, les acides invertases et phosphatases ainsi que la modification du profil de l'ADN génomique (Mohamed, 2011). De nombreuses plantes ont des mécanismes exclusifs qui sont classés comme mécanismes de tolérance pour les ions

métalliques individuels. Pendant ce temps, les ions métalliques sont séquestrés dans des compartiments protégeant les composants sensibles des cellules des interactions métalliques. Des composés tels que les acides aminés, le glutathion, les phytochélatines, les métallothionéines et des enzymes telles que le superoxyde dismutase et le peroxyde sont impliqués dans de tels mécanismes (**Hossain et al. 2012**). Par exemple, la phytotoxicité du Cr est manifestée par une réduction de croissance, une teneur médiocre en chlorophylle, en protéines, en proline, une teneur accrue en MDA et une absorption élevée de métaux facilitée par l'hormone végétale 28 homobrassinolide (28-HBL) appartenant au groupe des brassinostéroïdes (BR) via la régulation des enzymes antioxydantes. Il a été rapporté que la surproduction des enzymes glyoxylases GLY I et/ou GLY II qui détoxifient le méthyl-glyoxal dans les plantes transgéniques d'*Arabidopsis* offre une tolérance à la salinité et aux stress des métaux lourds (**Mustafiz et al. 2011**).



# Conclusion

En conclusion, cette étude approfondie a fourni des informations essentielles sur l'effet du chrome (Cr) et du plomb (Pb) sur la germination et la croissance des graines et des pousses de *Ballota hirsuta*. Les résultats obtenus ont démontré de manière convaincante que le Cr est plus toxique que le Pb, soulignant ainsi la nécessité de prendre en compte les différents métaux lourds lors de la mise en œuvre de stratégies de phytoremédiation.

Les métaux lourds ont montré des effets néfastes significatifs sur plusieurs paramètres liés à la germination, à la croissance et à la synthèse des protéines chez *Ballota hirsuta*. Les doses élevées de Cr et de Pb ont entraîné une réduction considérable du pourcentage de germination, ainsi qu'une diminution de la vitesse de germination. Ces métaux ont également entravé la croissance des pousses, se traduisant par une réduction de leur longueur et de leur poids frais.

Les résultats de cette étude suggèrent que l'impact négatif du Cr et du Pb sur la germination et la croissance des graines et des pousses de *Ballota hirsuta* est principalement dû à leur capacité à induire des perturbations dans la physiologie de la plante. Les métaux lourds peuvent interférer avec la synthèse des protéines, perturber l'équilibre hormonal, endommager les membranes cellulaires et provoquer une accumulation toxique dans les tissus végétaux.

Il est important de souligner que *Ballota hirsuta* présente une certaine tolérance aux métaux lourds, comme en témoigne sa capacité à germer et à croître même en présence de doses modérées de Cr et de Pb. Cependant, cette tolérance a ses limites, et des doses élevées de ces métaux peuvent finalement inhiber complètement la germination et la croissance de la plante.

Cette étude met en évidence l'importance cruciale de prendre en considération les effets des métaux lourds sur la germination et la croissance des plantes dans le contexte de la phytoremédiation. La compréhension des mécanismes physiologiques et des réponses des plantes aux métaux toxiques est essentielle pour développer des stratégies de dépollution efficaces. Les résultats de cette étude offrent des perspectives précieuses pour améliorer les approches de phytoremédiation et de protection de l'environnement.

Il est également important de souligner que cette étude présente certaines limites. Bien que les résultats aient révélé l'effet néfaste du Cr et du Pb sur la germination et la croissance de *Ballota hirsuta*, il convient de noter que les conditions de laboratoire utilisées dans cette étude peuvent différer des conditions réelles présentes sur le terrain. Par conséquent, il est

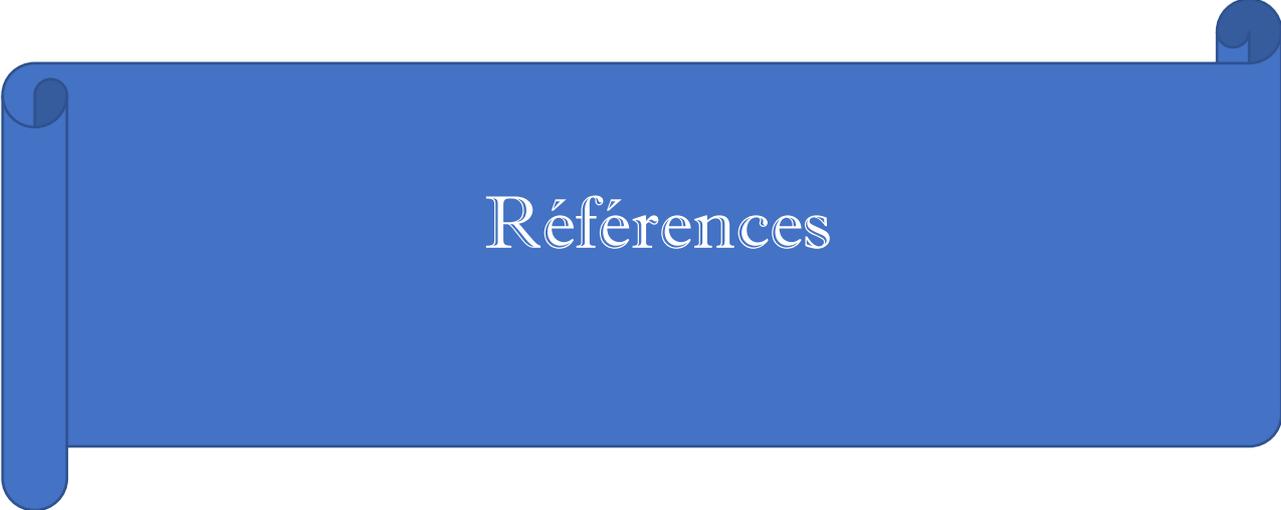
## Conclusion

---

nécessaire de poursuivre les recherches pour valider ces résultats dans des conditions réelles et élargir la portée de cette étude à d'autres espèces végétales.

Enfin, des études futures sont nécessaires pour approfondir notre compréhension des mécanismes de résistance et de tolérance des plantes aux métaux lourds. Ces recherches pourraient inclure des investigations sur les mécanismes moléculaires et biochimiques impliqués dans la réponse des plantes aux métaux toxiques, ainsi que sur les interactions complexes entre les métaux lourds et d'autres facteurs environnementaux. Une meilleure compréhension de ces mécanismes permettra de développer des stratégies plus efficaces pour la dépollution des sols et la protection de l'environnement.

En somme, cette étude contribue à l'expansion de nos connaissances sur les effets du chrome et du plomb sur la germination et la croissance des plantes, en mettant en évidence les conséquences néfastes de ces métaux lourds sur *Ballota hirsuta*. Ces résultats fournissent des informations précieuses pour l'amélioration des approches de phytoremédiation et de gestion des sols contaminés par des métaux lourds, contribuant ainsi à la préservation de l'environnement et à la durabilité de nos écosystèmes.



# Références

**Ahmad MSA, Hussain M, Ashraf M, Ahmad R, Ashraf MY. 2009.** Effect of nickel on seed germinability of some elite sunflower (*Helianthus annuus L.*) cultivars. Pak J Bot 41(4) :1871–1882.

**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>

**Anzala, FJ. 2006.** *Contrôle de la vitesse de germination chez le maïs (Zeamays) : étude de la voie de biosynthèse des acides aminés issus de l'aspartate et recherche de QTLs.* Angers : These doctorat. Université d'Angers, 2006. p. 148.

**Aya, A., N'Drii, N., Patrice, L., Kouaél&Irié, A., &Zoro, B. 2011.** *Bases génétique et biochimiques de la capacité germinative des graines : implications pour les systèmes semenciers et la production alimentaire.* 1, s.l. : Sciences & Nature, 2011, Vol. 8, pp. 119-137.

**BABE S'IDE, M, AHMED EMBEIRIK, M et AHMED SID AHMED, A. 2017.** *Effet de la scarification chimique sur la germination de Ziziphus lotus (L.)* Lam. s.l. : Université de Nouakchott AL Aasriya, 2017. p. 66.

**Bishnoi NR, Dua A, Gupta VK, Sawhney SK. 1993.** *Effect of chromium on seed germination, seedling growth and yield of peas.* AgricEcosyst Environ 47 :47–57.

**Bouziid, S. 2016.** *ECOPHYSIOLOGIE VEGETALE.* Constantine : Université Des Frères Mentouri, 2016. p. 10.

**Citoglu G., Tanker M., Sever B., Englert J., Anton R., Altanlar N. 1998.** *Antibacterial Activities of Diterpenoids Isolated from Ballota saxatilis subsp. saxatilis.* Planta Med. 64: 484-485.

**Ćurguz VG, Raičević V, Veselinović M, Tabacovic-Tošić M, Vilotić D. 2012.** *Influence of heavy metals on seed germination and growth of Piceaabies L.* Karst. Pol J Environ Stud 21(2) :355–361.

**Dadach M., Mehdadi Z. 2018.** Germination responses of *Ballota hirsuta* seeds under conditions of temperature, salinity and water stress. *Hellenic Plant Protection Journal* 11: 34-39.

- Djennde, N et Attalaoui, F. 2019.***Effets de la salinité sur la germination des graines de Peganumharmala*. Msila : Université Mohamed Boudiaf, 2019. p. 60.
- El Rasafi T, Nouri M, Bouda S, Haddioui A. 2016.***The effect of Cd, Zn and Fe on seed germination and early seedling growth of wheat and bean*. *Ekologia (Bratislava)* 35(3) :213–223.
- EshghiMalayeri, Behrouz. 1995.***Décontamination des sols contenant des métaux lourds à l'aide de plantes et de microorganismes*. Nancy : Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy 1 en Biologie des Organismes, 1995. p. 116.
- Geslot, Claire. 2015.***Ballote (Ballota pseudodictamnus)*. *Jardin Secrets*. [En ligne] 15 04 2015. <https://jardin-secrets.com/ballote.html>.
- Gonzalez-Mendoza D, Zapata-Perez O. 2008.***Mechanisms of tolerance to potentially toxic elements in plants*. *Bol Soc Bot. México* 82, 53–61.
- HELLER, R, ESNAULT, R et LANCE, C. 2004.***Physiologie végétale II*. Paris : Dunod, 2004. p. 240.
- Hemeir, Abdelhafidh. 2015.***Effet des métaux lourds (cuivre et zinc) sur les paramètres chimiques, morphologiques et biométriques de la tomate (Lycopersicon esculentum. Mill)*. Mostaganem : Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie. L'Université Abdelhamid Ibn Badis, 2015. p. 123.
- Hopkins, W G. 2003.***Physiologie végétale*. Bruxelles : Ed. De Boeck, 2003. p. 514.
- Hossain MA, Piyatida P, Silva JAT, Fujita M. 2012.***Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation*. *J. Bot.*, 2012, 1–37
- Kechar, K., Hellal, B., Ayad, N., & Benahmed-Djilali, A. 2016.***Enquête ethnobotanique sur la Ballota hirsuta Benth à Sidi Bel Abbes (Algérie)*. 6, Sidi Bel Abbes : Lavoisier SAS, 2016, Vol. 14, pp. 343-348.
- Koller, F. 2014.***Traitement des pollutions industrielles, eau, air, sols, boue*. Paris: Dunod, 2014. p. 424.
- Kranner I, Colville L. 2011.***Metals and seeds: biochemical and molecular implications and their significance for seed germination*. *Environ Exp Bot* 72:93–105.

- Li W, Khan MA, Yamaguchi S, Kamiya Y. 2005.***Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of Arabidopsis thaliana.* Plant Growth Regul 46 :45–50.
- Mazliak, P. 1982.***Physiologie végétale, croissance et développement tome III.* Paris : Hermann éditeurs des sciences et des arts, 1982. p. 420.
- Migeon, Aude. 2009.***Etude de la variabilité naturelle dans la réponse du peuplier aux métaux : bases physiologiques et exploitation en phytoremédiation.* Nancy : Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy-Université en Biologie Forestière, 2009. p. 358.
- Mohamed H.I. 2011.***Molecular and biochemical studies on the effect of gamma rays on lead toxicity in cowpea (Vigna sinensis) plants.* Biol Trace Elem Res., 144:1205–1218.
- Munzuroglu O, Geckil H. 2002.***Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in Triticum aestivum and Cucumis sativus.* Arch Environ Contam Toxicol 43: 203–213.
- Mustafiz A, Singh AK, Pareek A, Sopory SK, Singla-Pareek SL. 2011.***Genome-wide analysis of rice and Arabidopsis identifies two glyoxalase genes that are highly expressed in abiotic stresses.* Funct Integr Genomics. 2011; 11:293–305.
- Nagajyoti PC, Lee KD, Sreekanth TVM. 2010.***Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review.* Environ Chem Lett 8:199–216 12-19.
- Nedjimi B. 2020.** *Germination characteristics of Peganum harmala L. (Nitrariaceae) subjected to heavy metals: implications for the use in polluted dryland restoration.* Int J Environ Sci Technol 17 :2113–2122.
- Otmani, Hadjer et Selmane, Epouse. 2018.***Evaluation de la toxicité de quelques métaux lourds sur le comportement d'un modèle animal du groupe des Coelomates.* Annaba : Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat. Université Badji-Mokhtar, 2018. p. 159.
- Paul, R, et al. 2014.***Environmental specimen banks as a resource for mercury and mercury isotope research in marine ecosystems.* s.l.: Environ. Sci. :Processes Impacts, 2014. pp. 10-27.
- Quezel P. et Santa S. 1962.***Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques Méridionales, Tome II,* Ed. CNRS Paris. P 565.

**Raveton, Muriel. 2015.***Potentialité de phytoremédiation de matrices polluées par des organochlorés. Fonctionnalité de la rhizosphère.* Grenoble : Thèse pour obtenir le grade de docteur. L'Université de Grenoble, 2015. p. 258.

**Seidel V., Bailleul F., Tillequin F. 1999.***Terpenoids and phenolics in the genus Ballota L. (Lamiaceae).*RecentRes. Devel. Phytochem. 3 : 27-39.

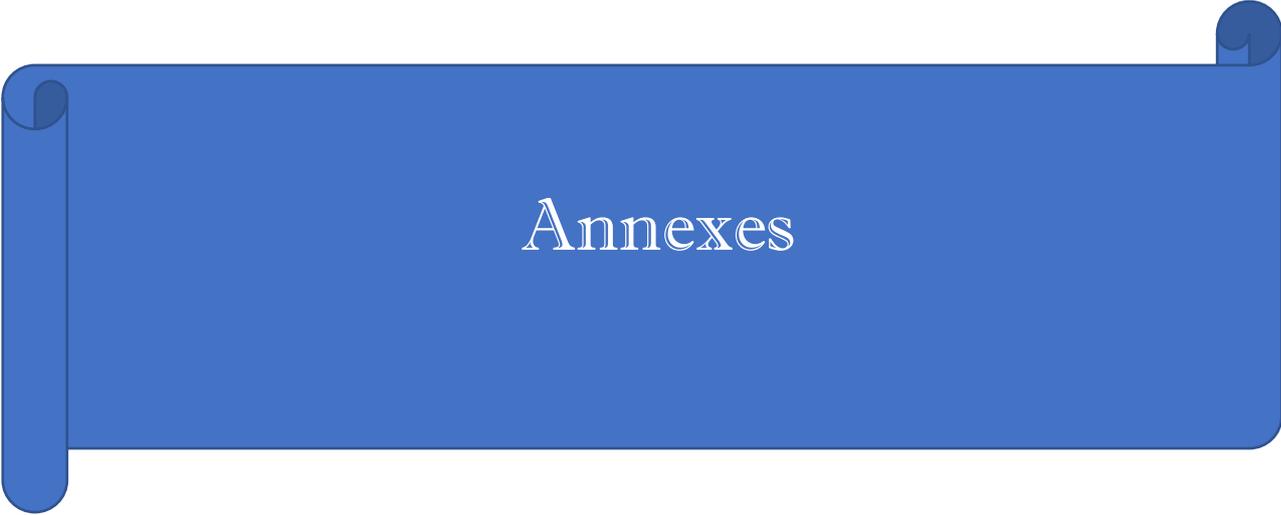
**Tiwari S., Lata C. 2018.** Heavy metal stress, signaling, and tolerance due to plant-associated microbes: an overview. *Front Plant Sci* 9:452. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00452>

**Vanobberghen, Fanny. 2010.***La phytoremédiation en Wallonie : Evaluation du potentiel d'assainissement des sols contaminés en métaux lourds.* Bruxelles : Mémoire de Fin d'Etudes. Université Libre de Bruxelles, 2010. p. 103.

**Zahi, W et Lamara, M. 2019.***Effet de la salinité sur la germination et la croissance d'Atriplexhalimus cas de Mostaganem et Oran.* Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis, 2019. pp. 12-19.

**ZAHNIT, MAROUA et SALHI, ZOUBIDA. 2022.***Inventaire des plantes spontanées à utilisation médicinale dans la région d'Ain Zaâtout, wilaya de Biskra.* Biskra : Université Mohamed Khider, 2022. p. 95.

**Zouainia, Sabrina. 2017.***Evaluation de la toxicité de deux métaux lourds (Cadmium et Zinc) sur le métabolisme énergétique (Respiratoire et Photosynthétique) d'une plante aquatique « Elodeacacanadensis ».* Annaba : Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Science. Université Badji-Mokhtar, 2017. p. 121.



# Annexes

## Annexe 1

## Tests des effets intersujets

Variable dépendante : PFG

Source	Somme des carrés de type III	Ddl	Carré moyen	F	Significatio n
Modèle corrigé	2138,222 <sup>a</sup>	11	194,384	1,545	,180
Constante	227211,111	1	227211,111	1806,449	,000
ML	608,444	1	608,444	4,837	,038
Cons	546,222	5	109,244	,869	,517
ML * Cons	983,556	5	196,711	1,564	,208
Erreur	3018,667	24	125,778		
Total	232368,000	36			
Total corrigé	5156,889	35			

a. R-deux = ,415 (R-deux ajusté = ,146)

## Annexe 2

## Tests des effets intersujets

Variable dépendante : TMG

Source	Somme des carrés de type III	Ddl	Carré moyen	F	Significatio n
Modèle corrigé	4,907 <sup>a</sup>	11	,446	3,945	,002
Constante	402,832	1	402,832	3562,437	,000
ML	,424	1	,424	3,752	,065
Cons	3,879	5	,776	6,862	,000
ML * Cons	,603	5	,121	1,066	,403
Erreur	2,714	24	,113		
Total	410,452	36			
Total corrigé	7,620	35			

a. R-deux = ,644 (R-deux ajusté = ,481)

## Annexe 3

## Tests des effets intersujets

Variable dépendante : TH

Source	Somme des carrés de type III	Ddl	Carré moyen	F	Significatio n
Modèle corrigé	17,435 <sup>a</sup>	11	1,585	10,578	,000
Constante	28,682	1	28,682	191,410	,000
ML	10,963	1	10,963	73,165	,000
Cons	4,026	5	,805	5,373	,002
ML * Cons	2,446	5	,489	3,264	,022
Erreur	3,596	24	,150		
Total	49,713	36			
Total corrigé	21,031	35			

a. R-deux = ,829 (R-deux ajusté = ,751)

## Annexe 4

## Tests des effets intersujets

Variable dépendante : TR

Source	Somme des carrés de type III	Ddl	Carré moyen	F	Significatio n
Modèle corrigé	64,664 <sup>a</sup>	11	5,879	34,852	,000
Constante	103,927	1	103,927	616,144	,000
ML	30,434	1	30,434	180,430	,000
Cons	19,303	5	3,861	22,888	,000
ML * Cons	14,928	5	2,986	17,700	,000
Erreur	4,048	24	,169		
Total	172,639	36			
Total corrigé	68,712	35			

a. R-deux = ,941 (R-deux ajusté = ,914)

## Annexe 5

## Tests des effets intersujets

Variable dépendante : IVP

Source	Somme des carrés de type III	Ddl	Carré moyen	F	Significatio n
Modèle corrigé	963152,774 <sup>a</sup>	11	87559,343	23,417	,000
Constante	1638627,563	1	1638627,563	438,242	,000
ML	568381,963	1	568381,963	152,011	,000
Cons	204213,485	5	40842,697	10,923	,000
ML * Cons	190557,325	5	38111,465	10,193	,000
Erreur	89738,204	24	3739,092		
Total	2691518,542	36			
Total corrigé	1052890,979	35			

a. R-deux = ,915 (R-deux ajusté = ,876)

## Annexe 6

## Tests des effets intersujets

Variable dépendante : VAR00003

Source	Somme des carrés de type III	Ddl	Carré moyen	F	Significatio n
Modèle corrigé	30236,660 <sup>a</sup>	11	2748,787	8,130	,000
Constante	119367,482	1	119367,482	353,068	,000
Cons	17066,448	5	3413,290	10,546	,000
ML	143,104	1	143,104	,693	,521
Cons * ML	13027,109	5	2605,422	7,992	,000
Erreur	8114,064	24	338,086		
Total	157718,206	36			
Total corrigé	38350,724	35			

a. R-deux = ,788 (R-deux ajusté = ,691)

## Résumé

*Ballota hirsuta* Benth. est l'une des plantes communes trouvées sur les sols contaminés par les métaux lourds (MLs) de la région méditerranéenne. Cependant, les informations sur les effets des MLs sur la germination des graines et la croissance précoce des semis de ce sous-arbuste ne sont pas entièrement dévoilé. Nous avons donc dans cette étude examinée les effets de diverses concentrations (c.-à-d. 0, 50, 100, 150, 200 et 300 ppm) de plomb (Pb) et de chrome (Cr) sur la germination des graines et la croissance précoce des semis de cette plante. Les graines ont germé au maximum à 100 et 150 ppm de Pb (89,3 %), tandis que les valeurs les plus basses de PFG ont été enregistrées à 300 ppm de Cr (64 %). Les graines pourraient germer jusqu'à 300 ppm en présence des deux HM. Généralement, Cr était le plus et Pb le moins inhibiteur sur la germination. Une inhibition apparente de la croissance des semis s'est produite à partir du niveau de 50 ppm pour Cr. Quelle que soit la concentration utilisée; le Pb était généralement moins inhibiteur sur le paramètre de la longueur des hypocotyles et des radicules par rapport au Cr. Cette étude a montré que l'espèce testée est tolérante vis-à-vis des concentrations croissantes (50-300 ppm) de Pb, tant au stade de la germination des graines qu'au stade de la croissance des semis. Par conséquent, cette espèce pourrait être considérée comme une excellente candidate pour la restauration/réhabilitation de sites pollués par le plomb dans les conditions bioclimatiques méditerranéennes.

**Mots-clés :** Tolérance aux métaux, Caractéristiques de germination, Croissance des semis, Restauration des sols, Bassin méditerranéen.

## Abstract

*Ballota hirsuta* Benth. is one of the common plants found on heavy metal (HM) contaminated lands of the Mediterranean region. However, information about effects of HMs on the seed germination and early seedling growth of this sub-shrub is not fully known. This study thus examined the effects of various concentrations (i.e. 0, 50, 100, 150, 200 and 300 ppm) of lead (Pb) and chromium (Cr) on seed germination and early seedling growth of this plant. Seeds germinated maximally at 100 and 150 ppm Pb (89.3 %), while the lowest values of FGP were recorded at 300 ppm Cr (64 %). Seeds could germinate in up to 300 ppm under the presence of the both HMs. Generally, Cr was the most and Pb the least inhibitory to germination. Apparent inhibition of seedling growth occurred from the level of 50 ppm for Cr. Whatever the concentration; Pb was generally less inhibitory to hypocotyl and radical length than Cr. This study showed that the tested species is tolerant to increasing concentrations (50-300 ppm) of Pb, at both seed germination and seedling growth stages. Hence, this species could be considered an excellent candidate for the restoration/rehabilitation of Pb-polluted sites under Mediterranean bioclimatic conditions.

**Keywords:** Metal tolerance, Germination characteristics, Seedling growth, Soil restoration, Mediterranean basin.

## الملخص

الغصنة المهلبة (باللاتينية *Ballota hirsuta*) هي أحد النباتات الشائعة الموجودة في الأراضي الملوثة بالمعادن الثقيلة في منطقة البحر الأبيض المتوسط. ومع ذلك، فإن المعلومات حول تأثيرات المعادن الثقيلة على إنبات البذور ونمو الشتلات المبكرة لهذه الشجيرة غير معروفة تمامًا. لذلك فحصت هذه الدراسة آثار التركيزات المختلفة (أي 0، 50، 100، 150، 200 و 300 جزء في المليون) من الرصاص (Pb) والكروم (Cr) على إنبات البذور ونمو الشتلات المبكرة لهذا النبات. انتشت البذور بأقصى حد عند 100 و 150 جزء من المليون من الرصاص (89.3%)، بينما سجلت أقل قيمة للإنبات (64%) عند 300 جزء في المليون من الكروم. يمكن أن تنبت البذور في ما يصل إلى 300 جزء في المليون في ظل وجود كلا المعدنين. بشكل عام، الكروم هو الأكثر و الرصاص هو الأقل تثبيطاً للإنبات. حدث تثبيط واضح لنمو الشتلات من مستوى 50 جزء في المليون من الكروم. مهما كان التركيز، الرصاص عموماً أقل تثبيطاً لطول الجذع و الجذور مقارنة بالكروم. أظهرت هذه الدراسة أن هذا النوع من النباتات تتحمل زيادة تراكيز (50-300 جزء في المليون) من الرصاص في كل من مراحل إنبات البذور ونمو الشتلات. ومن ثم، يمكن اعتبار هذا النوع مرشحاً ممتازاً لإعادة تأهيل الأراضي الملوثة بالرصاص تحت ظل ظروف مناخ البحر الأبيض المتوسط.

**الكلمات المفتاحية:** تحمل المعادن، خصائص الإنبات، نمو الشتلات، ترميم التربة، حوض البحر الأبيض المتوسط.