

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

**Caractérisation phyto-chimique des plantules
de *Marrubium vulgare* L. après un traitement
métallique des graines par différentes
concentrations en Pb / Ni**

Présenté par :

ARAB Thinhinane & SAOUDI Thiziri

Soutenu le : 30 Juin 2024

Devant le jury composé de :

| | | | |
|-----|-----------------------|-----|-----------|
| Mr | Dadach M. | MCA | Président |
| Mr | Benadjaoud A. | MCA | Encadreur |
| Mme | Ali Hussein A. | MCB | Examineur |

Année universitaire : 2023 / 2024

REMERCIEMENTS

On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté pour entamer et terminer ce mémoire.

Nous tenons à remercier dans un premier temps notre encadreur : *Mr Benadjaoud Ali* pour son professionnalisme, sa confiance, son écoute active, sa patience et sa grande disponibilité. Nous le remercions également pour nous avoir communiqué sa passion pour la recherche, son soutien moral et surtout ses précieux conseils qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Nos remerciements les plus chaleureux vont aussi à : *Mme Ali Hussein Alaa* pour sa disponibilité, ses conseils et son soutien durant la partie rédactionnelle de ce mémoire. Nous sommes très honorées de la compter parmi les membres de notre jury de soutenance. Elle a déjà apporté et apportera encore plus à ce travail.

On remercie également le président de ce jury, *Mr Dadach M.* qui nous a déjà apporté son aide indéfectible lors de notre stage pratique. Sa présence dans ce jury de soutenance nous honore.

On tient aussi à témoigner toute notre reconnaissance à toute l'équipe exerçant au Laboratoire pédagogique *N°1 de Biotechnologie*, pour nous avoir donné les moyens et l'environnement nécessaires pour mener à bien nos recherches.

Nous tenons également à adresser l'expression de notre sincère gratitude à nos enseignants qui ont contribué à bien nous former en *Toxicologie Industrielle et Environnementale*.

DÉDICACES

À mes chers *parents*, dont l'amour et le soutien inconditionnels ont été le phare qui a guidé chacun de mes pas.

À mes *sœurs* et mon *frère*, compagnons de vie et sources d'inspiration quotidienne, pour les rires partagés et les moments précieux.

À mes *amies*, pour les aventures vécues, les défis relevés ensemble et les souvenirs impérissables que nous avons créés. Et au milieu des rires et des confidences partagées, une gratitude particulière pour celui qui, dans une complicité, offre son soutien indéfectible.

Cette œuvre est le reflet de votre présence constante et bienveillante dans ma vie. À vous tous, je dédie ce travail, avec toute ma reconnaissance et mon affection.

♡ *THINHINANE* ♡

DEDICACES

“Il y aura des obstacles. Des doutes. Il y aura des erreurs. Mais avec un travail acharné, il n'y a pas de limites.” – *Michael Phelps*

Cette œuvre est bien le résultat de longues années d'études et de sacrifices, si fière de moi avant tout pour la volonté, le courage et la patience que j'ai eus pour achever ce travail qui n'est que le début d'une fin. Pour cela, c'est avec un grand plaisir, sincérité et fierté que je le dédie spécialement :

Aux êtres les plus chers à mon cœur, *mes parents* :

À mon cher *père*, tu as été le pilier de ma vie, tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager en partageant avec moi mes hauts et mes bas, ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les obstacles, quoi que je fasse ou quoi que je dise je ne saurai point te remercier comme il se doit, je ne doute pas que tu es si fière de moi aujourd'hui comme tu l'as été toujours.

À celle qui m'a donné la vie, celle qui a illuminé mon chemin, ma très chère *maman*, aucune dédicace ne serait témoin de mon profond amour, mon immense gratitude et mon plus grand respect, merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien que tu m'as donné, sans oublier tes encouragements durant toutes mes années d'études, merci pour tes prières et ton amour inconditionnel.

À mon cher *grand père*, pour qui je souhaite longue vie et santé, l'homme de courage et de foi, l'homme qui m'a soutenu et qui m'a épaulé pour que je puisse atteindre mes objectifs, merci pour tout ce que tu as fait pour moi.

Et surtout à toute personne qui m'a soutenu, motivé, encouragé et a cru en moi que ce soit de près ou de loin, je vous remercie tous.

☆ THIZIRI ☆

| | |
|---------------------------------------|--------------------------------|
| BSA | Bovine Sérum Albumine |
| ETM | Élément trace métallique |
| Fig. | Figure |
| L. | Linné |
| mn | Minute |
| Ni | Nickel |
| NiSO₄ | Sulfate de nickel |
| Pb | Plomb |
| Pb(NO₃)₂ | Nitrate de plomb |
| PF | Poids frais |
| pH | Potentiel hydrogène |
| PS | Poids sec |
| ppm | Parties par Million |
| ROS | Espèces réactives de l'oxygène |
| rpm | Rotations par minute |
| Tab. | Tableau |
| v/v | volume par volume |
| vs | <i>Versus</i> |

| | |
|---|-----------|
| I. Introduction | 01 |
| II. Synthèse Bibliographique | 03 |
| II.1. L'espèce <i>Marrubium vulgare</i> L. | 03 |
| II.1.1. Classification hiérarchique | 03 |
| II.1.2. Origine du nom et étymologie | 03 |
| II.1.3. Distribution et habitats | 04 |
| II.1.4. Description botanique | 04 |
| II.1.5. Ecologie de l'espèce | 05 |
| II.1.6. Composition phytochimique et utilisation | 06 |
| II.2. Éléments traces métalliques | 06 |
| II.2.1. Définition | 06 |
| II.2.2. Origine | 07 |
| II.2.3. Toxicité | 08 |
| II.3. Plomb vs Nickel | 08 |
| II.3.1. Effets et réponses apportées à la phytotoxicité du plomb | 08 |
| II.3.1.1. Effets sur la germination, la croissance et les activités physiologiques | 08 |
| II.3.1.2. Réponses apportées à la phytotoxicité du plomb | 10 |
| II.3.2. Effets et réponses apportées à la phytotoxicité du nickel | 12 |
| II.3.2.1. Effets sur la germination, la croissance et les activités physiologiques | 12 |
| II.3.2.2. Réponses apportées à la phytotoxicité du nickel | 13 |
| III. Matériel & Méthodes | 15 |
| III.1. Matériel | 15 |
| III.1.1. Matériel végétal | 15 |
| III.1.1.1. Origine des graines | 15 |
| III.1.1.2. Traitement des graines | 15 |
| III.1.1.3. Mise à germination des graines | 15 |
| III.1.1.4. Plantules issues des germinations | 16 |
| III.1.2. Préparation des solutions métalliques | 17 |
| III.1.2.1. Solution de $Pb(NO_3)_2$ | 17 |
| III.1.2.2. Solution de $NiSO_4$ | 17 |
| III.2. Méthodes | 18 |
| III.2.1. Méthodes appliquées à la germination | 18 |
| III.2.1.1. Pourcentages cumulés moyens de germination | 18 |

| | |
|---|-----------|
| III.2.1.2. Pourcentages cumulés finaux de germination | 18 |
| III.2.1.3. Temps moyens de germination | 18 |
| III.2.2. Détermination de la teneur en eau des plantules | 18 |
| III.2.3. Extraction et dosage des sucres solubles | 19 |
| III.2.3.1. Principe | 19 |
| III.2.3.2. Extraction | 19 |
| III.2.3.3. Dosage | 20 |
| III.2.3.4. Courbe étalon | 20 |
| III.2.4. Extraction et dosage des protéines | 20 |
| III.2.4.1. Principe | 20 |
| III.2.4.2. Extraction | 20 |
| III.2.4.3. Dosage | 20 |
| III.2.4.4. Courbe étalon | 21 |
| III.2.5. Étude statistique | 21 |
| IV. Résultats & Discussion | 22 |
| IV.1. Résultats | 22 |
| IV.1.1. Suivi de la germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 22 |
| IV.1.1.1. % cumulés moyens de germination des graines traitées au Pb(NO ₃) ₂ | 22 |
| IV.1.1.2. % cumulés moyens de germination des graines traitées au NiSO ₄ | 23 |
| IV.1.1.3. % cumulés moyens finaux de germination des graines témoins et traitées | 24 |
| IV.1.1.4. Temps moyens de germination des graines témoins et traitées | 25 |
| IV.1.1.5. Effets sur la germination des traitements au plomb vs nickel | 26 |
| IV.1.2. Teneur en eau des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 27 |
| IV.1.3. Contenu en sucres solubles des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 29 |
| IV.1.4. Contenu en protéines des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 30 |
| IV.2. Discussion | 32 |
| IV.2.1. Germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 32 |
| IV.2.2. Teneur en eau des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 35 |
| IV.2.3. Contenu en sucres solubles des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 36 |
| IV.2.4. Contenu en protéines des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 38 |
| V. Conclusion | 40 |
| VI. Références bibliographiques | 42 |

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 01 | Distribution mondiale de <i>Marrubium vulgare</i> L. Source de la carte de distribution du marrube. | 04 |
| 02 | Photographie de l'espèce <i>Marrubium vulgare</i> L. Source : photographie personnelle. | 05 |
| 03 | Principaux éléments métalliques, leur origine, leur impact sur les êtres vivants en général et sur la santé des êtres humains en particulier (Anyanwu et al. 2018). | 07 |
| 04 | Effets d'un stress lié à la présence du plomb au niveau racinaire et au niveau foliaire et ses conséquences sur les paramètres morpho-physiologiques des plantes (Aslam et al. 2020). | 09 |
| 05 | Niveaux d'accumulation du plomb au niveau des différentes parties d'une plante et les modalités de détoxification et/ou séquestration du plomb par des mécanismes constitutif et/ou inductible (Aslam et al. 2020). | 11 |
| 06 | Effets d'un excès en nickel sur l'ensemble des paramètres morpho-physiologiques des plantes (Mustafa et al. 2023). | 12 |
| 07 | Mécanismes d'absorption, de transport (indiqués en bleu) et de détoxification (indiqués en rouge) du nickel par les plantes (Mustafa et al. 2023). | 14 |
| 08 | Localisation géographique de la zone d'échantillonnage des fruits de l'espèce <i>Marrubium vulgare</i> L. | 15 |
| 09 | Graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. à différentes phases de germination : début de la germination (boîtes de gauche) ; percée de la radicule au jour 3 (boîte au milieu) et développement de la radicule au jour 12 (boîte de droite). | 16 |
| 10 | Présentation du nitrate de plomb en poudre [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (<i>Panreak</i>)] et en solution utilisé lors des tests de germination du lot de graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. traité par différentes concentrations en plomb. | 17 |
| 11 | Présentation du sulfate de nickel en cristaux [$\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (<i>Prolabo</i>)] et en solution utilisé lors des tests de germination du lot de graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. traité par différentes concentrations en nickel. | 17 |
| 12 | Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de glucose à 200 $\mu\text{g/mL}$ (densité optique lue à 630 nm). | 19 |

-
- 13** Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de BSA (sérum albumine bovine) à 1 mg/mL (densité optique lue à 595 nm). **21**
- 14** Evolution des % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ [25, 50, 75 et 100 ppm] en fonction du temps. **22**
- 15** Evolution des % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations en NiSO_4 [25, 50, 75 et 100 ppm] en fonction du temps. **23**
- 16** Effets des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ et en NiSO_4 sur les % cumulés moyens finaux de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0]. Ces données sont enregistrées au 12^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$. **24**
- 17** Effets des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ et en NiSO_4 sur les temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0]. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$. **25**
- 18** Evolution des teneurs en eau moyennes des plantules de *Marrubium vulgare* L. en fonction des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ et en NiSO_4 appliquées au milieu de germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$. **27**
- 19** Evolution des quantités moyennes en sucres solubles des plantules de *Marrubium vulgare* L. en fonction des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ et en NiSO_4 appliquées au milieu de germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$. **29**
- 20** Evolution des quantités moyennes en protéines des plantules de *Marrubium vulgare* L. en fonction des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ et en NiSO_4 appliquées au milieu de germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$. **31**

| N° | Titre | Page |
|-----------|---|-------------|
| 01 | Pourcentages cumulés moyens finaux enregistrés au 12 ^{ème} jour du suivi de la germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en plomb et nickel. | 26 |
| 02 | Temps moyens de germination (en jours) des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en plomb et nickel. | 27 |
| 03 | Teneurs moyennes en eau (en %) des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en plomb et nickel. | 28 |
| 04 | Contenu en sucres solubles (en mg/g de poids frais) des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en plomb et nickel. | 30 |
| 05 | Contenu en protéines (en mg/g de poids frais) des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en plomb et nickel. | 32 |

INTRODUCTION

I- Introduction

L'augmentation rapide du nombre d'industries, les activités anthropogéniques et le progrès des matériaux agricoles utilisés (insecticides, pesticides, herbicides et autres engrais chimiques) ont entraîné la libération de divers métaux lourds ou métalloïdes non essentiels ou toxiques (As, Pb, Cd, Hg, Cr, Ni, etc. ...) dans l'environnement. Cette libération constante de métaux lourds nocifs est devenue un défi majeur pour la survie des plantes et des autres êtres vivants (**Dhiman et al. 2023**).

Certaines plantes consomment ces métaux lourds toxiques à partir de leurs racines et parviennent à leur partie foliaire. Ces éléments peuvent interférer avec divers aspects des plantes, tels que la biochimie, les biomolécules et les processus physiologiques, ce qui se traduit généralement par des changements morphologiques, anatomiques et physiologiques (**Ejaz et al. 2023**).

Les plantes utilisent diverses stratégies pour faire face aux effets toxiques de la contamination par les métaux lourds. Certaines de ces stratégies comprennent la restriction des métaux lourds au niveau racinaire, la synthèse de divers composés biochimiques pour séquestrer les ions de métaux lourds une fois le compartiment racinaire est atteint, puis au niveau foliaire si et seulement si, ces métaux se déplacent vers ces parties où ils sont séquestrés dans des structures bien particulières (**Ejaz et al. 2023**). Tout dépend dans ces cas, de la capacité de tolérance exprimée par la plante, de la nature de l'élément métallique, de sa concentration et du temps d'exposition à ces éléments (**Zulfiqar et al. 2019**).

Notre travail est basé sur le choix d'une espèce végétale intéressante, au vu de ses capacités intrinsèques à limiter ou non la toxicité d'un élément métallique. Le choix s'est porté sur *Marrubium vulgare L.*, une espèce herbacée vivace qui appartient à la famille des Lamiacées. Elle est abondante et assez commune dans nos régions ; elle est considérée comme une plante d'intérêt aux vertus thérapeutiques de premier ordre et surtout capable de tolérer des environnements assez rudes (**Aćimović et al. 2020**).

Dans cette perspective, notre travail a été consacré à des essais de caractérisation au plan biochimique des plantules de *Marrubium vulgare L.* issues de la germination des graines traitées au préalable par différentes concentrations en plomb (Pb) et en nickel (Ni). Pour ce faire, le plomb a été apporté sous forme de nitrate de plomb $Pb(NO_3)_2$ et le nickel sous forme de sulfate de nickel hexahydraté $NiSO_4$. Les concentrations appliquées aux graines sont de [25, 50, 75 et 100 ppm], mises à germer en conditions contrôlées (obscurité et température réglée à 23°C).

L'évolution au cours du temps des pourcentages cumulés moyens, de la capacité germinative obtenue au final et de la vitesse de la germination ont été déterminés dans les 2 traitements et pour les différentes concentrations.

Au bout du 12^{ème} jour de germination où des plantules se sont suffisamment développées, le contenu en sucres solubles ainsi que le contenu protéinique ont été déterminés respectivement selon les méthodes de **McCready** et de **Bradford**. Il s'agit de mesurer les conséquences d'un stress métallique appliqué au préalable aux graines et ses répercussions sur les quantités en sucres solubles et en protéines totales des plantules.

**SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

II- Synthèse bibliographique

II-1- L'espèce *Marrubium vulgare* L.

L'espèce *Marrubium vulgare* L. ou marrube blanc est très commune dans le bassin méditerranéen (Lodhi et al. 2017). C'est une plante qui fait partie de la famille des Lamiacées, cette dernière est composée d'environ 7000 espèces pour 200 genres (Zhao et al. 2021). Cette famille est très bien fournie en espèces herbacées ou en espèces ligneuses. C'est aussi une famille réputée riche en plantes à usage aromatique et/ou médicinale, ne serait-ce que le thym, le romarin, la sauge, l'origan, la menthe et autres (Michel et al. 2020).

II-1-1- Classification hiérarchique

Selon le lien : http://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/107397/tab/taxo, la position hiérarchique de l'espèce *Marrubium vulgare* L. est ainsi :

Règne : Plantae Haeckel, 1866

Sous-Règne : Viridaeplantae

Classe : Equisetopsida C. Agardh, 1825

Clade : Spermatophyta

Sous-Classe : Magnoliidae Novak ex Takht., 1967

Super-Ordre : Asteranae Takht., 1967

Ordre : Lamiales Bromhead, 1838

Famille : Lamiaceae Martinov, 1820

Sous-Famille : Lamioideae Harley, 2003

Tribu : Marrubieae Vis., 1847

Genre : *Marrubium* L., 1753

Espèce : *Marrubium vulgare* L., 1753

II-1-2- Origine du nom et étymologie

Le nom latin *Marrubium vulgare* L. est constitué de deux termes : *mar* qui signifie amer, et *rob* qui signifie beaucoup. Le marrube peut être donc qualifié de plante amère. En français, on parle de marrube blanc, en anglais de *white horehound* et en italien de *Marrubio comune* (Ačimovič et al. 2020). Dans nos régions, en Kabylie notamment, le marrube blanc est connu sous l'appellation de *Maruyeth* ou encore de *Marrioua*. C'est une plante qu'on a l'habitude d'associer au miel pour réduire son amertume et qu'on utilise pour soigner les maladies respiratoires (Zidat, 2016).

II-1-3- Distribution et habitats

Marrubium vulgare est une plante qui pousse dans toute l'Afrique du Nord, dans presque toute l'Europe et également en Asie centrale. C'est une espèce introduite en Amérique et qu'on signale également du côté du Sud-Ouest de l'Afrique et en Australie (**Fig. 1**) (**Lodhi et al. 2017**).

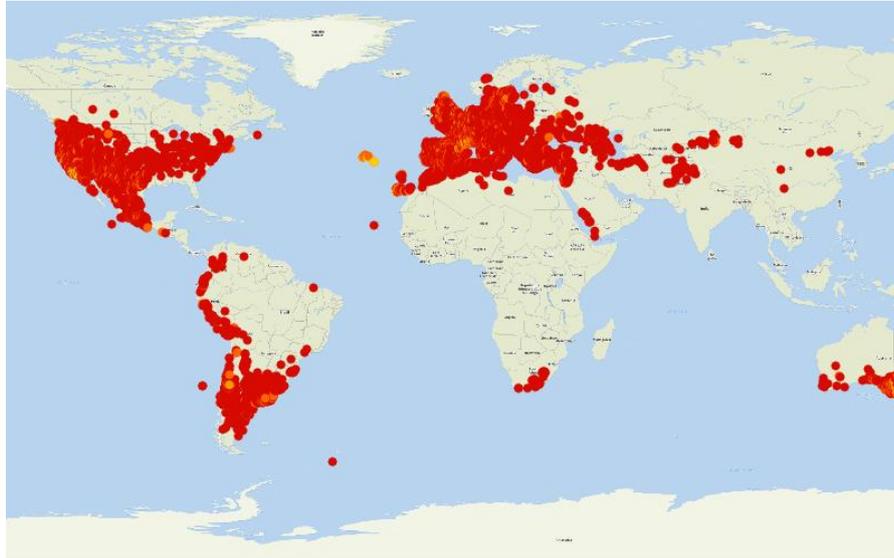


Figure 1 : Distribution mondiale de *Marrubium vulgare* L. Source de la carte de distribution du marrube : https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/107397

II-1-4- Description botanique

Marrubium vulgare L. est considéré comme une plante herbacée, vivace, haute d'une trentaine à une cinquantaine de cm et assez robuste. Elle a des racines fibreuses et de nombreuses tiges épaisses, quadrangulaires, dressées et très duveteuses. Ses feuilles sont rondes, dentées ou profondément dentelées, ridées, veinées, hirsutes en surface et portées par paires (**Fig. 2**).

Les fleurs du marrubium blanc sont assez blanchâtres et disposées en verticilles axillaires serrés. Le calice est tubulaire et divisé en 10 segments étroits à la marge, qui sont crochus à l'extrémité. La corolle est également tubulaire, avec une marge labiée, dont la lèvre supérieure est bifide, la lèvre inférieure réfléchie et trois fontes, avec le segment central légèrement festonné.

La capsule du fruit, qui est un akène, compte de minuscules graines de 1 à 2,5 mm de long. Au nombre de 3 à 4 graines par akène, elles sont de forme ovoïde, légèrement aplaties dans leur contour et présentant une surface rugueuse (**Lodhi et al. 2017 ; Nedjimi et al. 2020**).



Figure 2 : Photographie de l'espèce *Marrubium vulgare* L. Source : photographie personnelle (janvier 2024 à Amizour - Bejaia).

II-1-5- Ecologie de l'espèce

Le marrube blanc est une plante héliophile, de pleine lumière poussant en conditions d'humidité atmosphérique intermédiaire (40 %), de continentalité subocéanique (amplitude thermique $\approx 19^{\circ}\text{C}$) et de température euryméditerranéenne ou bien méditerranéo-atlantique ($T \approx 13^{\circ}\text{C}$).

L'espèce colonise les sols secs et drainés et ne tolère pas les terrains gorgés d'eau ainsi que la salinité. Elle préfère des sols à texture légère (limoneux-sableux), à pH légèrement alcalin ($7,5 < \text{pH} < 8,0$), riche en nutriments ($\approx 1250 \mu\text{g N/I}$) et relativement pauvres en matières organiques (**Julve, 2021**).

Au niveau régional, et notamment dans la steppe algérienne, on retrouve notre espèce de marrube poussant dans des sols calcimagnésiques à tendance xériques (aridosol), à croute calcaire, moyennement à fortement riches en matière organique, très peu humides et à pH légèrement alcalin. C'est ce que décrit **Bouterfas et al. (2013)** ainsi que **Nedjimi et al. (2020)** dans leurs travaux consacrés à cette espèce.

II-1-6- Composition phytochimique et utilisation

Marrubium vulgare L. possède des lactones di-terpéniques, tels que la marrubiine et la prémarrubiine ; des glycosides de phénylpropanoïdes dont le verbascoside ; des flavonoïdes ; des flavones méthoxylées ; des composés azotés caractéristiques de la famille des lamiacées ; des tannins spécifiques des lamiacées ; des mucilages et des huiles essentielles tels que α -pinène et le limonène (Lodhi et al. 2017).

En herboristerie, la plante de marrube est utilisée pour les douleurs et les irrégularités menstruelles, également utilisée en usage externe pour traiter les plaies douloureuses et enflammées. Grâce aux composants volatils, on l'utilise comme stimulant, contre la dyspepsie, l'aménorrhée, les rhumatismes chroniques et l'hépatite. On lui connaît des vertus expectorantes, antitussives, béchiques et fluidifiantes. L'espèce est habituellement utilisée en cas de toux grasse et d'inflammation des voies respiratoires. C'est la marrubiine qui en est le principe actif en exerçant un effet fluidifiant directe sur les sécrétions de la muqueuse bronchique, facilitant ainsi l'expectoration. Sa composition en essences aromatiques (α -pinène, limonène) offre aux extraits de marrube blanc des vertus antiseptiques pulmonaires.

L'extrait de marrube possède en outre des propriétés stimulantes cholagogues (évacuation de la bile) et cholérétiques (sécrétion de bile). L'action se fait par stimulation de la production de bile et son évacuation par la vésicule biliaire. C'est aussi un excellent tonique naturel à utiliser en cas de fatigue, de convalescence ou d'anémie. Il est préconisé pour traiter le diabète, l'obésité et la cellulite (Lodhi et al. 2017 ; Yabrir, 2019 ; Ačimovič et al. 2020 ; Hayat et al. 2020 ; Michel et al. 2020).

II-2- Eléments traces métalliques

Les éléments métalliques ou oligoéléments sont indispensables pour le bon fonctionnement d'un organisme, cependant ces éléments peuvent devenir toxiques si leur concentration dépasse une certaine teneur dans l'organisme. Certains de ces éléments peuvent s'avérer toxiques au-delà d'un certain seuil comme le plomb, le cadmium et le mercure (Perrono, 1999).

II-2-1- Définition

Les éléments traces métalliques sont définis comme des éléments dont la masse volumique est supérieure à 5 g/cm³. Ce sont des constituants naturels de la croûte terrestre et sont présents à des concentrations variables dans tous les écosystèmes. Les plus connus pour leur dangerosité sont le plomb (Pb), le mercure (Hg), le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le cuivre (Cu), le nickel (Ni), le zinc (Zn) auxquels il faut rajouter l'arsenic (As) et le sélénium (Se) (Fig. 3) (Selvaraj, 2018).

II-2-2- Origine

La présence des éléments métalliques dans l'environnement peut être d'origine naturelle ou anthropique. Cette dernière a contribué à la pollution des sols et des systèmes aquatiques. Un problème d'envergure, étant donné que le sol exerce des fonctions essentielles qui déterminent en grande partie la production des produits alimentaires et la qualité de l'eau. De plus, ces éléments n'étant pas biodégradables, ils persistent longtemps dans les organismes et les écosystèmes contaminés (**Fig. 3**) (**Maftouh et al. 2024**).

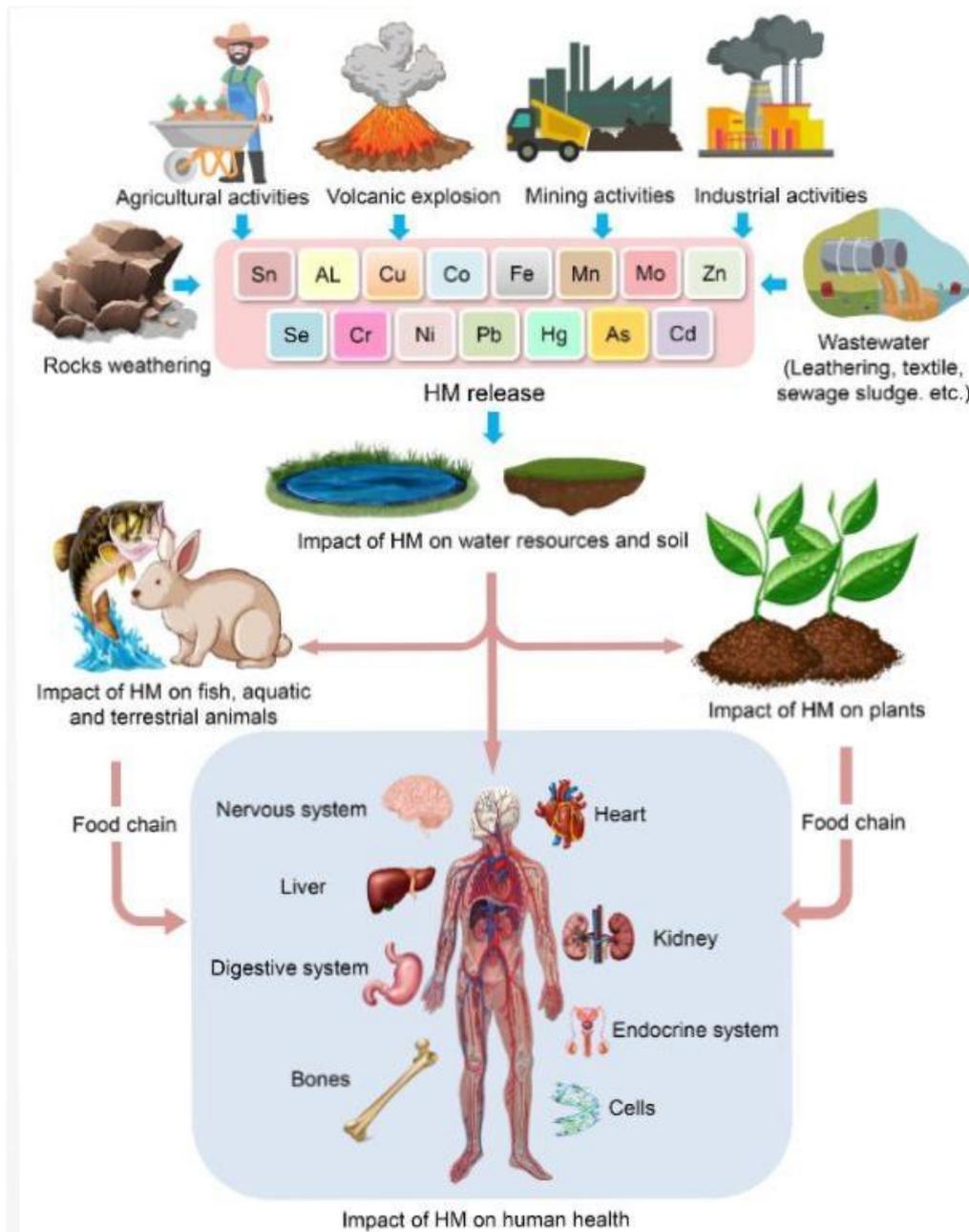


Figure 3 : Principaux éléments métalliques, leur origine, leur impact sur les êtres vivants en général et sur la santé des êtres humains en particulier (**Anyanwu et al. 2018**).

II-2-3- Toxicité

Les multiples usages des éléments métalliques domestiques, agricoles ou bien industrielles ont conduit à leur large diffusion dans l'environnement, suscitant des inquiétudes quant à leurs effets potentiels sur l'environnement d'abord et surtout sur la santé humaine ensuite. Leur toxicité dépend de plusieurs facteurs, notamment la dose, la voie d'exposition et les espèces chimiques, ainsi que l'âge, le sexe, la génétique et l'état nutritionnel des personnes exposées.

Ces éléments métalliques sont considérés comme des toxiques systémiques connus pour provoquer des lésions de plusieurs organes, même à des niveaux d'exposition faibles. Ils sont également classés comme cancérogènes pour l'homme (**Fig. 3**) (**Tchounwou et al. 2012**).

II-3- Plomb vs Nickel

Bien que le plomb n'a pas d'utilité biologique connue sur les plantes, il est facilement assimilé et accumulé dans différentes parties de la plante. Son absorption est régulée par le pH, la taille des particules et la capacité d'échange cationique des sols, ainsi que par l'exsudation des racines et d'autres paramètres physico-chimiques (**Fig. 4**) (**Sharma and Dubey, 2005**).

Le nickel est un nutriment essentiel pour la croissance et le développement normaux des plantes. Il est absorbé au niveau racinaire dès lors qu'il est disponible dans le sol. En excès, ses effets favorisent une production des ROS et entravent le fonctionnement de plusieurs processus physiologiques tels que la photosynthèse, la transpiration, ainsi que la nutrition minérale, et provoquent à long terme une phytotoxicité (**Fig. 6**) (**Shahzad et al. 2018**).

II-3-1- Effets et réponses apportées à la phytotoxicité du plomb

II-3-1-1- Effets sur la germination, la croissance et les activités physiologiques

Le plomb retarde la germination et réduit la capacité des graines à germer de manière dose-dépendante chez les espèces dont le tégument est assez perméable au plomb. Chez d'autres espèces, la germination n'est que retardée (**Fig. 4**) (**Wierzbicka and Obidzińska, 1998**).

La perméabilité des téguments au plomb varie au cours des différentes étapes de l'imbibition. Lorsque l'absorption d'eau est intense, les téguments sont imperméables au plomb. Au cours des derniers stades de l'imbibition où l'absorption d'eau est réduite, l'entrée du plomb est plus ou moins facilitée. Ce plomb qui atteint l'embryon exerce un effet retardant sur le processus de germination (**Wierzbicka and Obidzińska, 1998**).

Les plantes en culture sur sol fortement contaminé au plomb présentent certains symptômes de toxicité qui retardent la croissance végétative et reproductive, diminuant ainsi au final la qualité et le rendement de ces plantes (**Fig. 4**) (**Ilyas et al. 2023 ; Rani et al. 2024**).

Le plomb absorbé au niveau racinaire est en partie transporté vers les feuilles via les tissus vasculaires. Des dépôts de plomb de différentes tailles ont été détectés dans les espaces intercellulaires, les parois cellulaires et les vacuoles. De petites quantités de plomb sont même retrouvées au niveau des noyaux, des chloroplastes et des mitochondries exerçant ainsi des effets toxiques sur ces organites (**Fig. 4**) (**Wierzbicka and Antosiewicz, 1993 ; Verma and Dubey, 2003 ; Seregin et al. 2004 ; Sharma and Dubey, 2005**).

Une fois atteint le niveau cellulaire, le plomb inhibe les activités de nombreuses enzymes, perturbe la nutrition minérale et l'équilibre hydrique, modifie le statut hormonal et affecte la structure de la membrane et sa perméabilité. Les symptômes visuels de la toxicité au plomb sont dans ce cas, un retard de croissance, une chlorose et un noircissement du système racinaire (**Fig. 4**) (**Burton et al. 1984, Sharma and Dubey, 2005**).

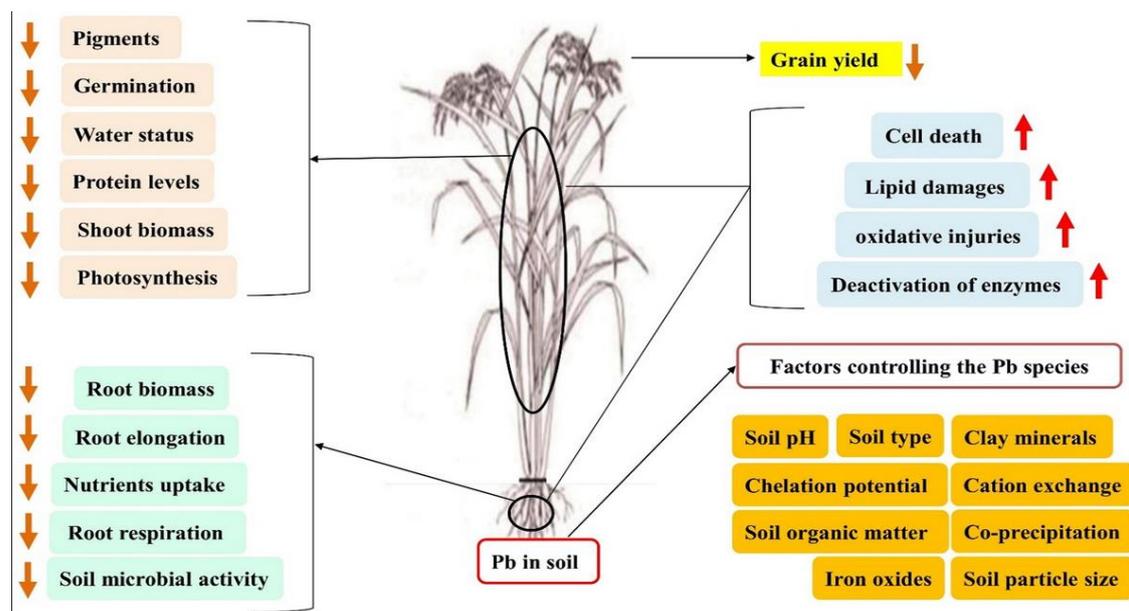


Figure 4 : Effets d'un stress lié à la présence du plomb au niveau racinaire et au niveau foliaire et ses conséquences sur les paramètres morpho-physiologiques des plantes (**Aslam et al. 2020**).

Des irrégularités mitotiques sont observées en présence de différentes concentrations en plomb. Cet élément empêche par voie de conséquence la formation du fuseau mitotique, ce qui bloque la division des cellules des méristèmes des racines en prométaphase (**Sharma and Dubey, 2005**).

L'inhibition des activités enzymatiques résulte souvent de l'interaction du plomb avec les groupements sulphydryl (-SH) de ces enzymes. Ainsi, l'activité des métalloenzymes peut décliner en raison de cette substitution d'un élément essentiel par du plomb au niveau des principaux sites actifs de telles enzymes (**Fig. 4**) (**van Assche and Clijsters, 1990 ; Sharma and Dubey, 2005 ; Rani et al. 2024**).

En présence du plomb, plusieurs éléments minéraux dont le potassium, calcium, magnésium, manganèse, zinc, cuivre et fer sont bloqués au niveau des sites d'absorption racinaires. Ceci déséquilibre le contenu en minéraux susceptibles d'atteindre les tissus racinaires en croissance (**Fig. 4**) (**Kabata-Pendias and Pendias, 2001 ; Malkowski et al. 2002**).

La transpiration et la teneur en eau des tissus diminuent considérablement en présence du plomb. C'est la conséquence d'une réduction du développement des surfaces foliaires présentant de surcroît des cellules de garde de petite taille. Le plomb abaisse également le niveau des composés associés au maintien de la turgescence cellulaire et de la plasticité de la paroi diminuant par conséquent le potentiel hydrique à l'intérieur de la cellule et favorisant l'augmentation des teneurs en ABA qui entraînent une fermeture des stomates (**Fig. 4**) (**Bazzaz et al. 1974 ; Sharma and Dubey, 2005**).

Les protéines, les hydrates de carbone et les glycolipides membranaires sont altérés en présence du plomb (**Stefanov et al. 1995**). Pareil pour la photosynthèse, conséquence d'une modification de l'ultrastructure du chloroplaste, de la diminution de la synthèse des chlorophylles et des caroténoïdes, de l'entrave exercée sur le transport des électrons le long de la chaîne photosynthétique et de l'inhibition des activités des enzymes du cycle de Calvin (**Fig. 4**) (**Sharma and Dubey, 2005 ; Collin et al. 2022**).

Le plomb stimule la respiration et augmente la teneur en ATP lorsqu'il est présent en faibles concentrations. Ceci est due à une forte demande de production d'ATP par phosphorylation oxydative. En concentrations plus élevées, le plomb réprime la respiration et diminue le contenu en ATP (**Fig. 4**) (**Romanowska et al. 2002 ; Collin et al. 2022**).

Le plomb favorise la formation d'espèces réactives de l'oxygène, ce qui entraîne un stress oxydatif dans les parties de la plante en croissance. Ce stress induit une peroxydation des lipides, une diminution des acides gras saturés et une élévation du contenu en acides gras insaturés au niveau membranaire de plusieurs espèces de plantes (**Fig. 4**) (**Verma and Dubey, 2003 ; Sharma and Dubey, 2005**).

II-3-1-2- Réponses apportées à la phytotoxicité du plomb

Les plantes possèdent deux mécanismes de séquestration / détoxification du plomb : l'un est constitutif, l'autre est inductible (**Pourrut et al. 2013**).

Le mécanisme constitutif correspond à une adsorption du plomb sur des constituants cellulaires. Ainsi, il a été noté qu'une exposition au plomb augmente la synthèse des polysaccharides, provoquant un épaississement significatif des parois cellulaires. Cet épaississement augmente la taille de la barrière physique constituée par les parois et limite ainsi l'accès du plomb aux membranes cellulaires. Aussi, les liaisons que nouent le Pb avec les groupes -COOH des acides uroniques constitutifs du mucilage limite également l'absorption du plomb au niveau racinaire (**Fig. 5**) (**Morel et al. 1986 ; Pourrut et al. 2013**).

Les mécanismes inductibles sont mis en place pour éliminer le plomb. Ainsi, l'excès du plomb qui pénètre dans le symplasme est rapidement éliminé par l'activité efflux des pompes membranaires. Ces transporteurs étant constitutifs, mais l'analyse du transcriptome a montré que l'expression de leurs gènes est stimulée par le plomb. Une activité de détoxification rapide et efficace s'opère également au niveau vacuolaire par séquestration du plomb complexé avec des phytochelatines, le glutathion ou bien des acides aminés (**Fig. 5**) (**Wierzbica and Antosiewicz, 1993 ; Pourrut et al. 2013**).

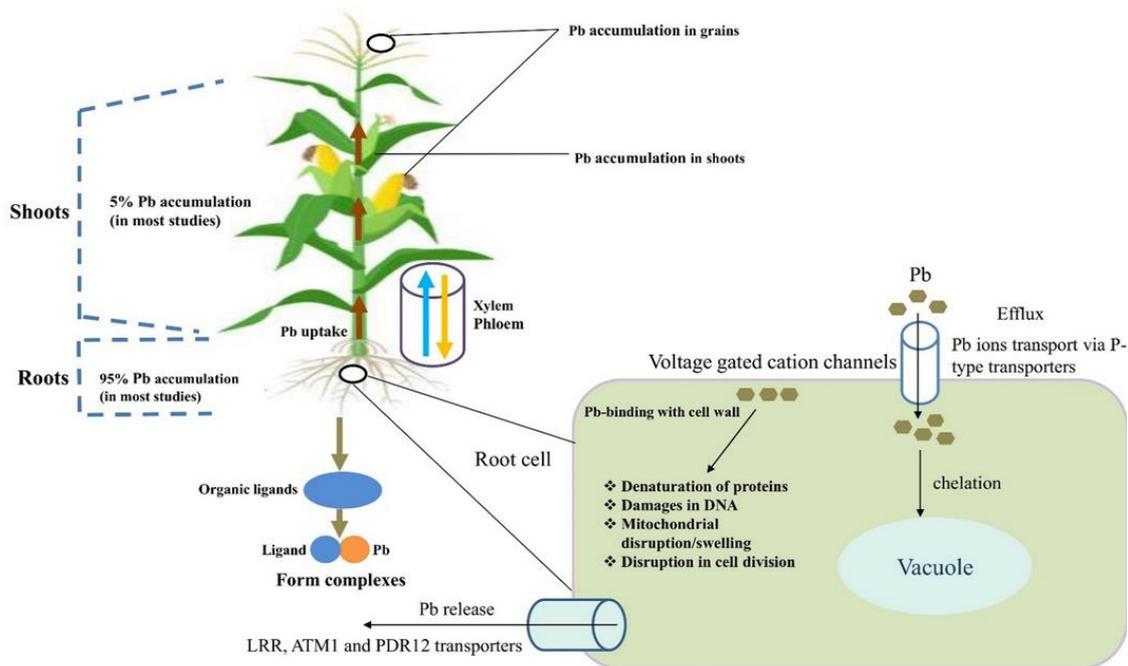


Figure 5 : Niveaux d'accumulation du plomb au niveau des différentes parties d'une plante et les modalités de détoxification et/ou séquestration du plomb par des mécanismes constitutif et/ou inductible (**Aslam et al. 2020**).

D'autres mécanismes de défense sont également activés en présence du plomb tels que la synthèse d'osmolytes compatibles (proline), des polyamines (putrescine), des changements de composition chimique des parois cellulaires (dépôt de callose et de subérine) et de la balance hormonale (éthylène et ABA) (**Seregin and Ivanov, 2001**).

II-3-2- Effets et réponses apportées à la phytotoxicité du nickel

II-3-2-1- Effets sur la germination, la croissance et les activités physiologiques

Si une certaine quantité en nickel est essentielle pour une croissance normale, à certaines activités enzymatiques et au métabolisme de l'azote ; en excès des changements de différents ordres sont observés affectant la germination, la croissance des racines et des pousses, l'accumulation de la biomasse et la production au final des grains (Fig. 6) (Yusuf et al. 2010 ; Hassan et al. 2019 ; Chatterjee and Choudhury, 2023).

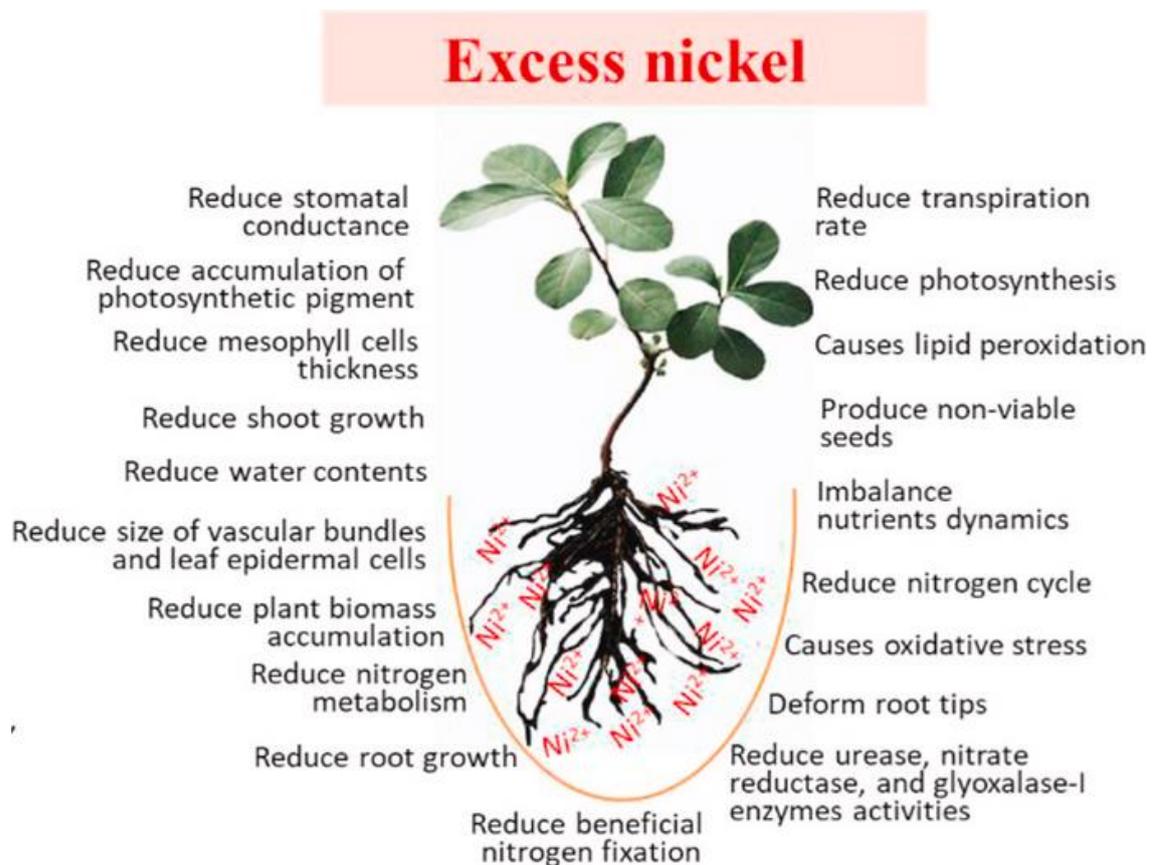


Figure 6 : Effets d'un excès en nickel sur l'ensemble des paramètres morfo-physiologiques des plantes (Mustafa et al. 2023).

L'inhibition de la germination des graines et de la croissance des semis se manifeste en raison entre autres d'une réduction des activités métaboliques, de l'élasticité des parois, des divisions cellulaires et des activités liées aux enzymes hydrolytiques (Walker et al. 1985 ; Seregin and Kozhevnikova, 2006 ; Hassan et al. 2019 ; Mustafa et al. 2023).

Les racines sont la cible principale du nickel toxique, leur croissance est plus sévèrement affectée que celle des parties aériennes (Fig. 6) (Seregin et al. 2003 ; Alam et al. 2007 ; Gajewska and Sklodowska, 2008).

Le nickel présent en excès perturbe les relations hydriques des plantes en affectant de ce fait la croissance racinaire, la transpiration, l'ouverture des stomates et la conductivité hydraulique des racines (**Fig. 6**) (**Hassan et al. 2019**).

Le nickel en excès empêche l'assimilation et le transport de plusieurs nutriments dont le fer, le cuivre, le zinc et le manganèse. Il élimine le calcium des sites de liaison au niveau du complexe dégageant de l'oxygène et se substitue aux ions magnésium au niveau de la chlorophylle. En conséquence, on observe une réduction de la croissance et une diminution des activités enzymatiques qui contrôlent la photosynthèse et la transpiration. La carence en magnésium conduit à la détérioration des chlorophylles entraînant par voie de conséquence chloroses et nécroses des feuilles (**Fig. 6**) (**Boisvert et al. 2007 ; Hassan et al. 2019**).

La photosynthèse est également réduite par les effets délétères imposés par le nickel à la structure des chloroplastes, des membranes des thylakoïdes, sur les échanges gazeux via les stomates, sur la chaîne de transport d'électrons, les activités des enzymes du cycle de Calvin et les pigments photosynthétiques (**Fig. 6**) (**Yusuf et al. 2010 ; Hassan et al. 2019**).

L'excès du nickel favorise la formation des espèces réactives de l'O₂, préjudiciables aux systèmes membranaires, aux protéines et aux lipides membranaires. Les systèmes enzymatiques antioxydants, qui doivent piéger les ROS sont inhibés en présence de quantités élevées en Ni, amplifiant de ce fait, la peroxydation des lipides et les fuites des ions (**Fig. 6**) (**Hassan et al. 2019 ; Kumar et al. 2022**).

Le nickel en excès n'induit pas uniquement une diminution du contenu protéinique, mais aussi celui relatif aux sucres solubles tout en affectant les teneurs en azote fixé par symbiose notamment entre *Rhizobium* et le groupe des légumineuses (**Fig. 6**) (**Ali et al. 2009 ; Yusuf et al. 2010**).

II-3-2-2- Réponses apportées à la phytotoxicité du nickel

Le mécanisme général de détoxification du nickel implique avant tout un système d'exclusion/restriction de l'entrée de l'élément métallique (barrières physiques) ; une chélation du métal avec des ligands (phytochélatines, métallothionines et nicotinamide) ; suivi d'une distribution dans des compartiments (vacuoles et autres) où il ne peut pas entraver le déroulement des principaux processus cellulaires. Il y a lieu de noter que plusieurs composants cellulaires (osmolytes, enzymes, régulateurs) participent activement à la tolérance du nickel (**Fig. 7**) (**Mustafa et al. 2023**).

Ces observations sont déduites des capacités de tolérance exprimées par des espèces hyper-accumulatrices du nickel, telles que les espèces appartenant aux genres *Assyllum*, *Streptanthus*, *Berkheya* et *Thlaspi*. Ces espèces développent des potentialités ainsi résumées par **Mustafa et al. (2023)** dans la figure suivante (**Fig. 7**) :

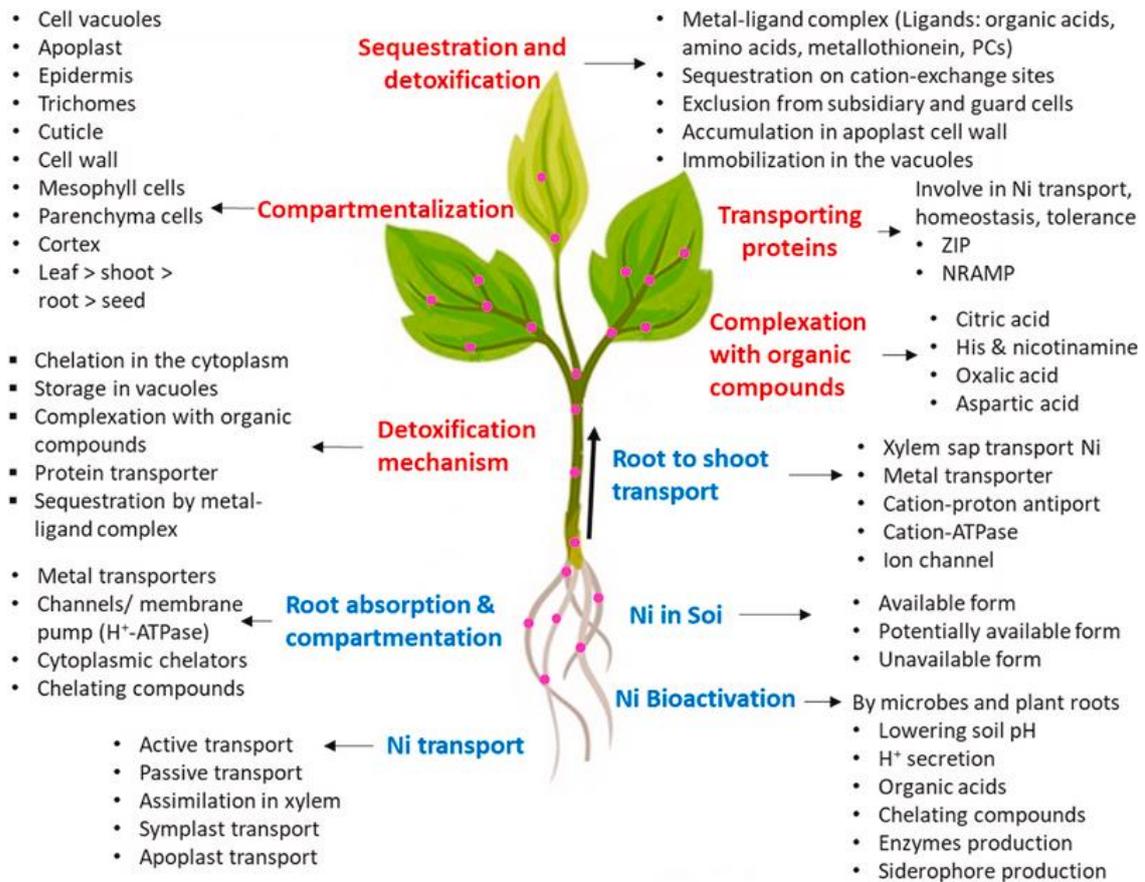


Figure 7 : Mécanismes d'absorption, de transport (indiqués en bleu) et de détoxification (indiqués en rouge) du nickel par les plantes (Mustafa et al. 2023).

MATERIEL & METHODES

III- Matériel & Méthodes

III-1- Matériel

L'étude a été menée au laboratoire pédagogique N°1 de Biotechnologie. Son objectif est d'analyser la composition en protéines et en sucres solubles des plantules de *Marrubium vulgare* L., après exposition des graines à diverses concentrations en plomb et en nickel.

III-1-1- Matériel végétal

III-1-1-1- Origine des graines

Les fruits de *Marrubium vulgare* L. ont été cueillis en juillet 2022 dans la région de Ben Badis (wilaya de Sidi Bel Abbès). Cette zone se trouve dans le nord-ouest de l'Algérie, aux coordonnées 34°57'6" N ; 0°54'50" O, et se situe à une altitude de 708 m (**Fig. 8**).

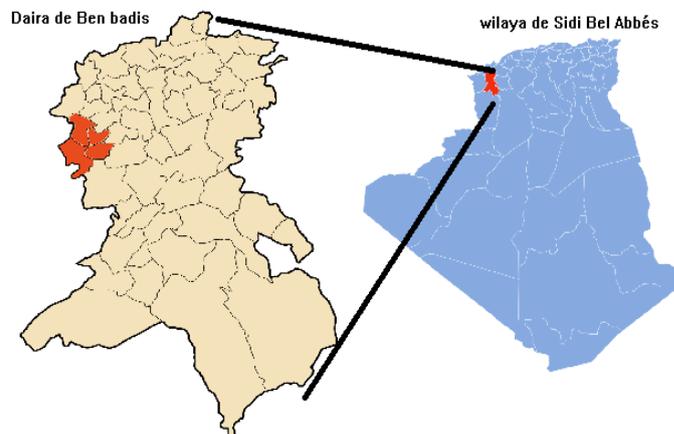


Figure 8 : Situation géographique de la zone d'échantillonnage des fruits de l'espèce *Marrubium vulgare* L.

III-1-1-2- Traitement des graines

Les graines ont été décortiquées minutieusement de leurs akènes. Elles sont désinfectées en utilisant de l'eau de javel à 5 % (v/v) pendant quelques minutes puis sont abondamment rincées à l'eau distillée. Les graines récupérées à l'aide d'une passoire sont étalées sur du papier absorbant en attendant de les répartir en boîtes de Petri.

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

Pour la germination, les graines de *Marrubium vulgare* L. sont déposées en boîtes de Petri stériles (Ø 90 mm x H 15 mm) à raison de 25 graines par boîte. Ces boîtes au nombre total de 36, sont au préalable tapissées de papier absorbant. Elles ont été réparties en trois lots distincts :



Le lot **témoin** composé de 4 boîtes distinctes, chacune est humidifiée par 6 mL d'**eau distillée**.

Le lot **traité au plomb** composé de 4 sous-groupes. Chaque sous-groupe contient des boîtes dans lesquelles on dépose 6 mL d'une solution de **plomb** à une concentration connue. Les concentrations utilisées sont de **25, 50, 75** et **100 ppm**, avec 4 boîtes attribuées à chacune des concentrations testées.

Le lot **traité au nickel** préparé de la même façon que ce qui vient d'être décrit précédemment.

Chaque boîte est recouverte de son couvercle et scellée par du parafilm pour prévenir toute évaporation de l'eau (lot témoin) ou de la solution stressante (lots traités) et d'assurer ainsi l'intégrité des conditions expérimentales pendant la période de suivi de la germination. L'ensemble des boîtes sont entreposées dans une étuve réglée à 23°C et à l'abri de la lumière.

Le comptage des graines ayant initié la germination est réalisé toutes les 24 heures. Le critère de germination adopté est celui de la percée de la radicule, qui se développe à une longueur minimale de 2 mm (**Evenari, 1957**).



Figure 9 : Graines de *Marrubium vulgare* L. à différentes phases de germination : début de la germination (boîtes de gauche) ; percée de la radicule au jour 3 (boîte au milieu) et développement de la radicule au jour 12 (boîte de droite).

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

Après le suivi de la germination, les plantules qui se sont développées ont été récupérées au bout du 12^{ème} jour depuis la première mise à germinations. Elles ont été réservées pour déterminer leur teneur en eau, leur contenu protéinique et leur contenu en sucres solubles.

III-1-2- Préparation des solutions métalliques

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

Le nitrate de plomb est un sel inorganique de plomb et d'acide nitrique [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (*Panreak*)]. Il a été utilisé en solution dans de l'eau pour imposer aux graines de *Marrubium vulgare* L. un stress métallique. Les concentrations testées sont de 25, 50, 75 et 100 ppm.



Figure 10 : Présentation du nitrate de plomb en poudre [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (*Panreak*)] et en solution utilisé lors des tests de germination du lot de graines de *Marrubium vulgare* L. traité par différentes concentrations en plomb.

III-1-2-2- Solution de NiSO_4

Le sulfate de nickel utilisé est hexahydraté [$\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (*Prolabo*)]. Il se présente sous l'apparence d'un solide cristallin bleu ou vert-émeraude. Il a été testé en solution dans de l'eau sur les graines de *Marrubium vulgare* L. aux concentrations de 25, 50, 75 et 100 ppm.



Figure 11 : Présentation du sulfate de nickel en cristaux [$\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (*Prolabo*)] et en solution utilisé lors des tests de germination du lot de graines de *Marrubium vulgare* L. traité par différentes concentrations en nickel.

III-2- Méthodes

III-2-1- Méthodes appliquées à la germination

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

Les graines germées sont dénombrées au quotidien sur une durée totale de 12 jours. Les pourcentages cumulés moyens de germination sont exprimés selon la relation suivante :

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

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

Au terme du 12^{ème} jour du suivi de la germination, les pourcentages finaux de germination ont été déterminés selon la relation suivante (Doran & Gunn, 1987) :

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

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

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

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

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

III-2-2- Détermination de la teneur en eau des plantules

La teneur en eau a été déterminée pour chacune des plantules au bout du 12^{ème} jour de suivi de la germination. Cette teneur a été déterminée à partir des pesées des poids frais et des poids secs (dessiccation de 48 h au four réglé à 65°C) selon la relation suivante :

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

III-2-3- Extraction et dosage des sucres solubles

III-2-3-1- Principe

La quantité de sucres solubles est déterminée par la méthode de **McCready et al. (1950)**. A chaud, les acides concentrés provoquent une déshydratation des monosaccharides par départ de molécules d'eau à partir des groupements alcools des oses, avec formation d'hétérocycles, ce sont les dérivés furfuraux. Le 5-hydroxyméthylfurfural formé, se condense avec la forme tautomère de l'antrone, l'antranol. La condensation entraîne la formation de complexes vert - bleu.

III-2-3-2- Extraction

De 3 à 4 plantules sont pesées puis broyées d'abord à sec, puis dans 4 mL d'éthanol bouillant à 80%. Le mélange fortement agité est centrifugé durant 20 mn à 5000 tr/mn. Le surnageant récupéré renferme les sucres solubles. Le culot est repris une seconde fois dans 2 mL d'éthanol bouillant à 80%, puis centrifugé pendant 20 mn à 5000 tr/mn. Le surnageant récupéré est additionné au premier. Le total est ajusté à 6 mL par de l'éthanol à 80%.

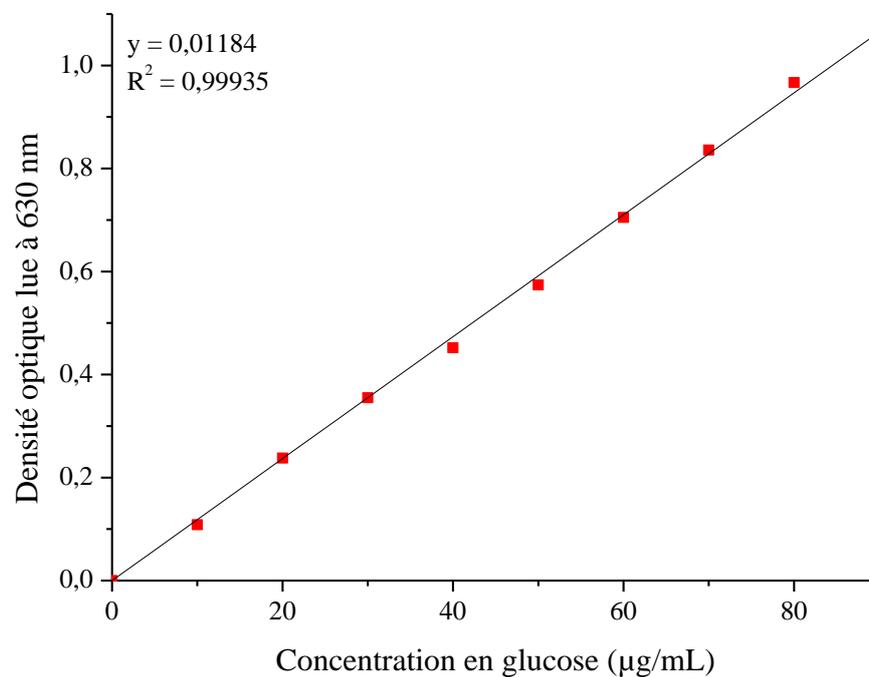


Figure 12 : Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de glucose à 200 $\mu\text{g/mL}$ (densité optique lue à 630 nm).

III-2-3-3- Dosage

A 1 mL de l'extrait sont rajoutés 2 mL de réactif à l'antrone (0,2 g d'antrone dissous dans 100 mL d' H_2SO_4 à 91%). L'agitation au vortex est suivie d'une incubation de 7 mn au bain-marie à 100°C. Après refroidissement, la lecture des densités optiques se fait au spectrophotomètre (VIS-7220 G / *Biotech Engineering Management Co. Ltd. UK*) à une longueur d'onde de 630 nm. L'étalonnage du spectrophotomètre est réalisé par un blanc constitué de 1 mL d'éthanol à 80% et 2 mL de réactif à l'antrone.

III-2-3-4- Courbe étalon

La courbe étalon est réalisée à l'aide d'une solution mère de glucose à 200 $\mu\text{g/mL}$. Les dilutions préparées sont de 10 ; 20 ; 30 ; 40 ; 50 ; 60 ; 70 et 80 $\mu\text{g/mL}$ (**Fig. 12**). Cette courbe servira à déterminer la quantité de sucres solubles présentes dans l'extrait de plantes testé. La quantité en sucres solubles représente une moyenne de 4 essais différents pour chacun des lots et pour chacune des concentrations testées et sera exprimée en mg/g de poids frais.

III-2-4- Extraction et dosage des protéines

III-2-4-1- Principe

Les protéines solubles sont dosées par la méthode de **Bradford (1976)**. C'est un dosage colorimétrique basé sur le changement de la couleur du bleu de Coomassie après liaison (complexation) avec les acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) et les résidus hydrophobes présents dans les protéines. En milieu acide, la forme anionique du bleu de Coomassie G250 interagit (liaisons non covalentes) avec les radicaux aromatiques des acides aminés des protéines. Sa longueur d'onde maximale d'absorption augmente alors de 465 nm (rouge) à 595 nm (bleu) (**Weckbecker and Cory, 1988**).

III-2-4-2- Extraction

De 3 à 4 plantules sont pesées puis broyées dans 1 + 1 mL de tampon phosphate (Na_2HPO_4 141,96 g/mol + KH_2PO_4 136,09 g/mol à dissoudre pour préparer 100 mL d'une solution tampon phosphate 0,05 M / pH 7,2 / pKa = 7,2 à 25°C). Le broyat est centrifugé à 13000 rpm pendant 10 mn. Le surnageant récupéré contient les protéines solubles.

III-2-4-3- Dosage

A 500 μL d'extrait protéique, sont rajoutés 2 mL de réactif de Bradford. L'ensemble est homogénéisé au vortex et après quelques minutes d'incubation à l'obscurité, la lecture des densités optiques se fait au spectrophotomètre (VIS-7220 G / *Biotech Engineering Management Co. Ltd. UK*) à une longueur d'onde de 595 nm. L'étalonnage du

spectrophotomètre est réalisé avec un blanc constitué de 500 μ L du tampon phosphate et 2 mL de réactif de Bradford.

III-2-4-4- Courbe étalon

La courbe étalon est réalisée à l'aide d'une solution mère de BSA à 1 mg/mL. Les dilutions préparées sont de 0,05 ; 0,10 ; 0,15 et 0,20 mg/mL (**Fig. 13**). Cette courbe servira à déterminer la quantité de protéines solubles présentes dans l'extrait de plantes testé. La quantité en protéines représente une moyenne de 4 essais différents pour chacun des lots et pour chacune des concentrations testées et sera exprimée en mg/g de poids frais.

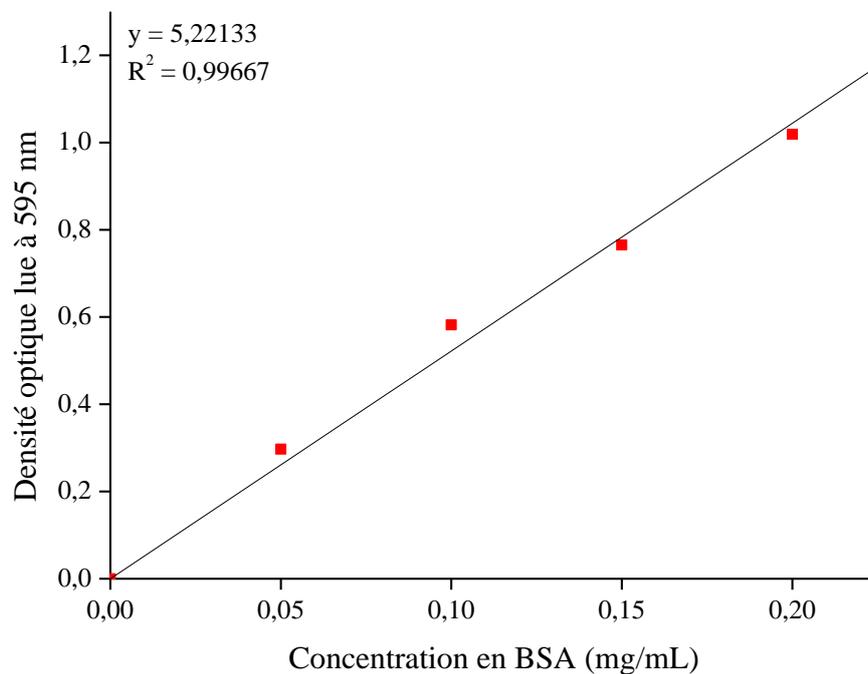


Figure 13 : Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de BSA (sérum albumine bovine) à 1 mg/mL (densité optique lue à 595 nm).

III-2-5- Etude statistique

Les résultats présentés expriment pour l'ensemble des analyses une valeur moyenne de 4 répétitions \pm écart-type. L'ensemble des paramètres analysés ont été soumis à une analyse de la variance de tous les effets et le test LSD pour les comparaisons post-hoc ($P = 0,05$). Ces analyses ont été effectuées avec Statistica 5.5 (StatSoft 1999).

RESULTATS & DISCUSSION

IV- Résultats & Discussion

IV-1- Résultats

IV-1-1- Suivi de la germination des graines de *Marrubium vulgare* L.

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

Aucune des graines de *M. vulgare* L. témoins ou traitées au plomb ne germe au 1^{er} ni au 2nd jour. C'est au 3^{ème} jour que la germination est enclenchée, plus favorablement avec les graines traitées au plomb aux faibles concentrations de 25 et 50 ppm qu'avec les graines témoins ou traitées au plomb avec les fortes concentrations de 75 et 100 ppm (**Fig. 14**).

Au-delà du 3^{ème} jour, les différences ne sont pas significatives et les graines témoins ou bien traitées aux différentes concentrations ne font que germer progressivement au cours du temps jusqu'au 8^{ème} jour où le maximum de germination est atteint. Néanmoins, il y a lieu de noter que les graines traitées au plomb aux concentrations de 50, 75 et 100 ppm semblent mieux germer que les graines témoins et les graines traitées au plomb à la faible concentration de 25 ppm. Ce constat est plus manifeste au-delà du 5^{ème} jour de la germination et se maintient jusqu'à la fin des comptages (**Fig. 14**).

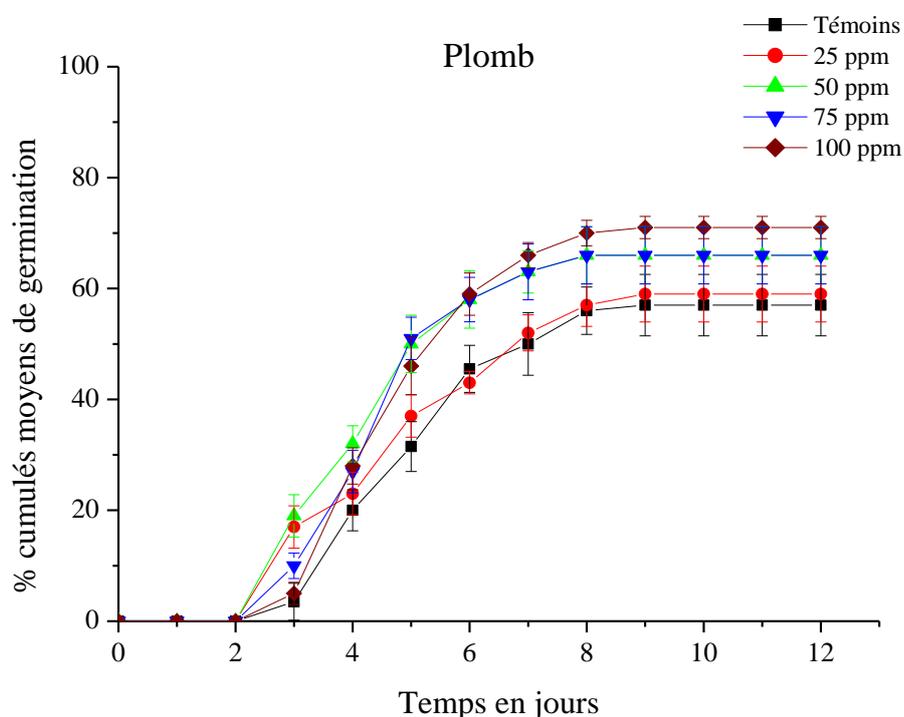


Figure 14 : Evolution des % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations en $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ [25, 50, 75 et 100 ppm] en fonction du temps.

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

Les courbes de germination des graines de *M. vulgare* L. témoins et des graines traitées par le nickel présentent toutes une allure sigmoïde (**Fig. 15**).

Si le déclenchement de la germination commence au-delà du 2nd jour pour l'ensemble des graines testées, il semble que le lot des témoins accuse un retard par rapport au lot des traités par le nickel. Ce retard se maintient par ailleurs jusqu'au 7^{ème} jour du suivi de la germination (**Fig. 15**).

Le maximum de graines qui germent est atteint au 8^{ème} jour et n'augmente plus au-delà de ce jour. Il est également intéressant de remarquer que comme dans le cas du plomb, une capacité germinative assez importante est observée lorsqu'on utilise le nickel et notamment aux concentrations les plus élevées. Ainsi par ordre d'importance, cette capacité atteint 68% lorsqu'on utilise 100 ppm de Ni ; 63% lorsqu'on utilise 75 ppm de Ni et 60% lorsqu'on utilise 50 ppm de Ni. Les graines témoins et les graines traitées avec la concentration de 25 ppm n'atteignent que moyennement 56% du total des graines qui germent (**Fig. 15**).

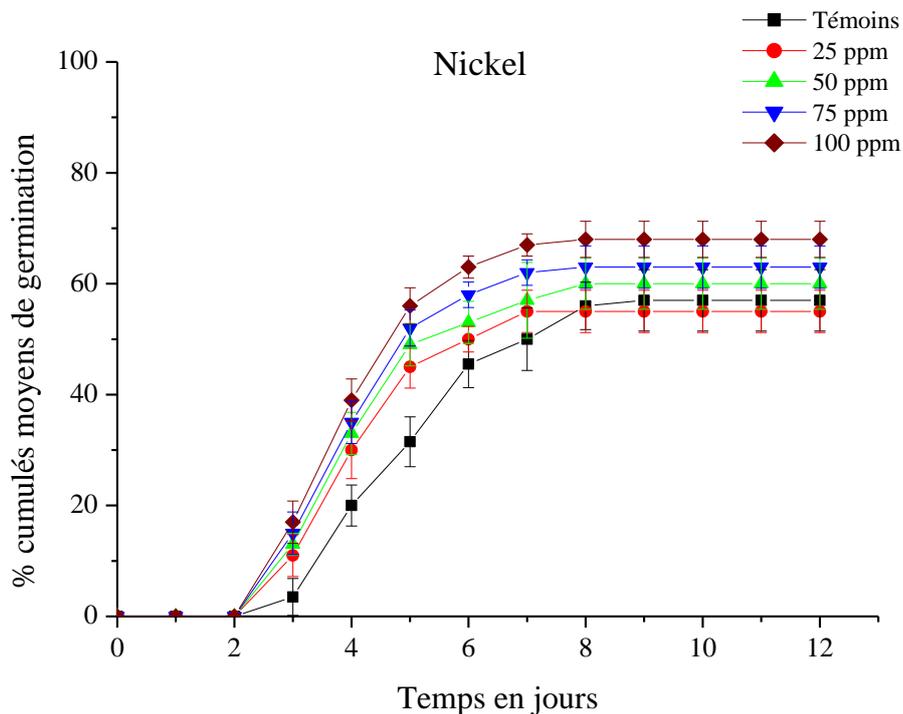


Figure 15 : Evolution des % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations en NiSO₄ [25, 50, 75 et 100 ppm] en fonction du temps.

IV-1-1-3- % cumulés moyens finaux de germination des graines témoins et traitées

Les pourcentages cumulés moyens finaux de germination des graines de *M. vulgare* L. ont été déterminés au bout du 12^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination des graines témoins [0 ppm] et traitées par les différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en Pb ou bien en Ni (**Fig. 16**).

Les graines non traitées ne germent au final qu'à hauteur de 57%. C'est sensiblement les mêmes pourcentages obtenus au final avec le faible traitement de [25 ppm] en plomb (59%) ou bien en nickel (55%) (**Fig. 16**).

Cependant lorsqu'on utilise des concentrations plus élevées, [50, 75 et 100 ppm], dans le milieu de germination des graines, il y a lieu d'observer une amélioration sensible de la capacité germinative obtenue au final. Ceci est d'autant vrai dans le cas du nickel, un peu plus dans le cas du plomb (**Fig. 16**).

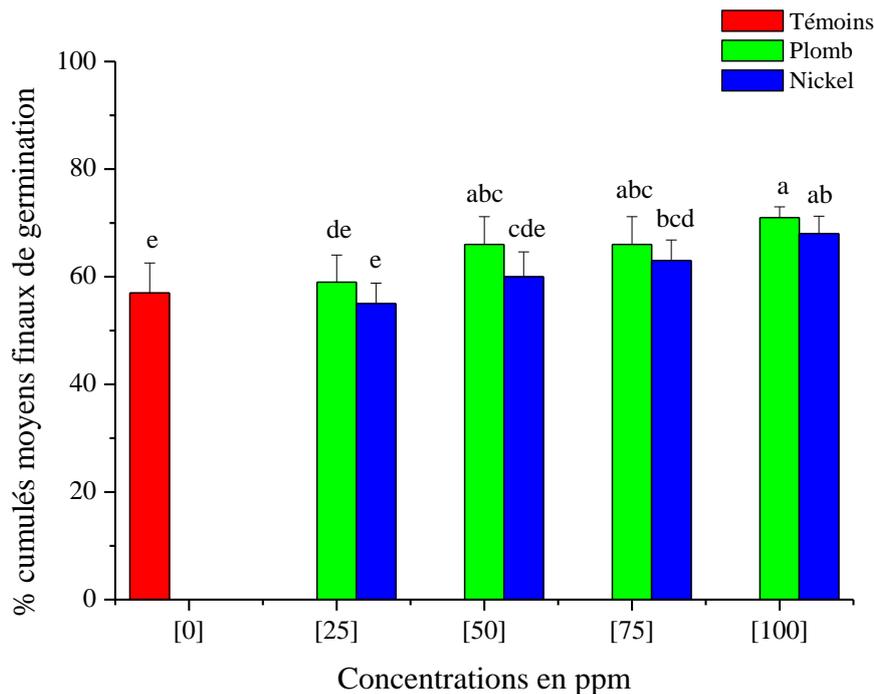


Figure 16 : Effets des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $Pb(NO_3)_2$ et en $NiSO_4$ sur les % cumulés moyens finaux de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0]. Ces données sont enregistrées au 12^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

IV-1-1-4- Temps moyens de germination des graines témoins et traitées

Le temps moyen de germination nécessaire pour la germination des graines témoins de *M. vulgare* L. est de $5,46 \pm 0,28$ jours. Ce temps moyen de germination est significativement plus élevé que celui enregistré chez les graines traitées au plomb et encore plus que celui des graines traitées au nickel (**Fig. 17**).

Lorsque les graines sont traitées avec les différentes concentrations en plomb, le temps moyen de germination des 4 traitements est sensiblement le même. Il est quasi identique pour les 2 traitements extrêmes, à savoir 5,10 jours pour le traitement de [25 ppm] et 5,14 jours pour le traitement de [100 ppm]. Il est un peu moindre lorsque les traitements sont intermédiaires, à savoir 4,64 jours pour le traitement de [50 ppm] et 4,83 jours pour le traitement de [75 ppm] (**Fig. 17**).

Dans le cas du traitement au nickel, le temps moyen de germination exhibé par les graines traitées est identique. Il ne diffère pas du tout entre les différentes concentrations testées (**Fig. 17**).

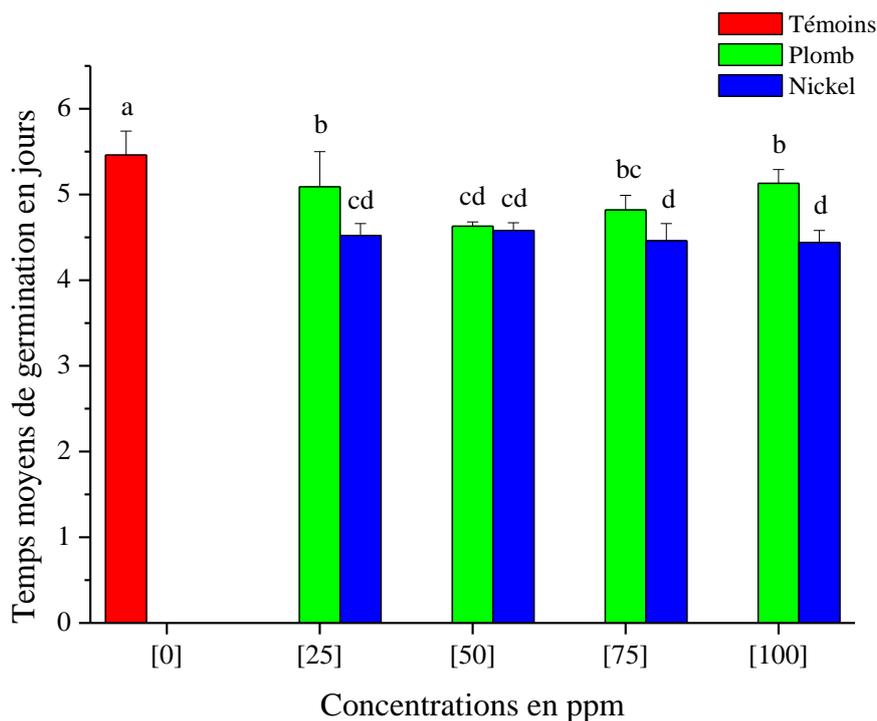


Figure 17 : Effets des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $Pb(NO_3)_2$ et en $NiSO_4$ sur les temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0]. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

IV-1-1-5- Effets sur la germination des traitements au plomb vs nickel

Étalé sur une douzaine de jours, le suivi de la germination des graines de *M. vulgare* L. a donné lieu à quelques constatations. D’abord, un temps de latence est nécessaire pour déclencher la germination des graines. Ce temps de latence s’étale sur 2 à 3 jours pour que les premières graines germent. Cet état de fait a été observé chez le lot des témoins et chez les deux lots de traités par le plomb (**Fig. 14**) ou par le nickel (**Fig. 15**).

En second lieu, les courbes enregistrées dans tous les cas considérés présentent l’allure générale d’une sigmoïde plus ou moins étalée dans le temps durant sa seconde phase juste après la phase correspondant au temps de latence. Cette seconde phase correspond d’ailleurs à la progression des germinations ascendante au cours du temps. Elle s’étale à la limite du temps de latence (troisième jour) jusqu’au maximum de graines qui germent atteint vers le huitième jour (**Fig. 14 et 15**).

En troisième lieu, à partir du huitième jour rare sont les germinations des graines, ni pour le lot des graines témoins ni pour les lots des traités au plomb ou au nickel. Les graines non germées perdent leur capacité germinative en dépit de fait qu’on a prolongé le temps jusqu’au 20^{ème} jour pour permettre leur germination, mais sans résultats probants.

Dans un autre contexte et comparativement aux graines témoins, les germinations sont plutôt stimulées par le traitement métallique, qu’il soit par le plomb ou par nickel. Aussi, les meilleurs taux de germination des graines traitées sont enregistrés pour les concentrations les plus élevées. C’est ce qui ressort avec la synthèse reprise dans le tableau ci-dessous qui résume les taux cumulés moyens obtenus au final des douze jours de suivi de la germination (**Tab. 1**).

Même le rapport Pb / Ni est de 1 et ne change que très peu. Ceci montre que les effets du plomb et du nickel sont plutôt similaires sur le pouvoir germinatif au final des graines de *M. vulgare* L. (**Tab. 1**).

Tableau 1 : Pourcentages cumulés moyens finaux enregistrés au 12^{ème} jour du suivi de la germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en plomb et nickel.

| | Témoins | 25 ppm | 50 ppm | 75 ppm | 100 ppm |
|---------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <i>Pb(NO₃)₂</i> | 57 ± 5,5 | 59 ± 5,0 | 66 ± 5,1 | 66 ± 5,1 | 71 ± 2,0 |
| <i>NiSO₄</i> | | 55 ± 3,8 | 60 ± 4,6 | 63 ± 3,8 | 68 ± 3,2 |
| <i>Pb / Ni</i> | 1 | 1,07 | 1,10 | 1,04 | 1,04 |

Lorsqu'on considère les temps moyens de germination entre les deux traitements, on constate que le traitement au nickel donne les temps moyens de germination les plus courts vis-à-vis de ce qui a été observé dans le cas du traitement au plomb. Ceci est d'autant vrai que le rapport est légèrement supérieur à 1 dans trois cas de figure au moins (**Tab. 2**).

Tableau 2 : Temps moyens de germination (en jours) des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en plomb et nickel.

| | Témoins | 25 ppm | 50 ppm | 75 ppm | 100 ppm |
|---------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <i>Pb(NO₃)₂</i> | 5,46 ± 0,28 | 5,09 ± 0,41 | 4,63 ± 0,05 | 4,82 ± 0,17 | 5,13 ± 0,16 |
| <i>NiSO₄</i> | | 4,52 ± 0,14 | 4,58 ± 0,09 | 4,46 ± 0,20 | 4,44 ± 0,14 |
| <i>Pb / Ni</i> | 1 | 1,12 | 1,01 | 1,08 | 1,15 |

IV-1-2- Teneur en eau des plantules de *Marrubium vulgare* L.

Au bout du 12^{ème} jour, les plantules de *M. vulgare* L. qui se sont développées dans les milieux de germination ont été récupérées et leur teneur en eau a été déterminée (**Fig. 18**).

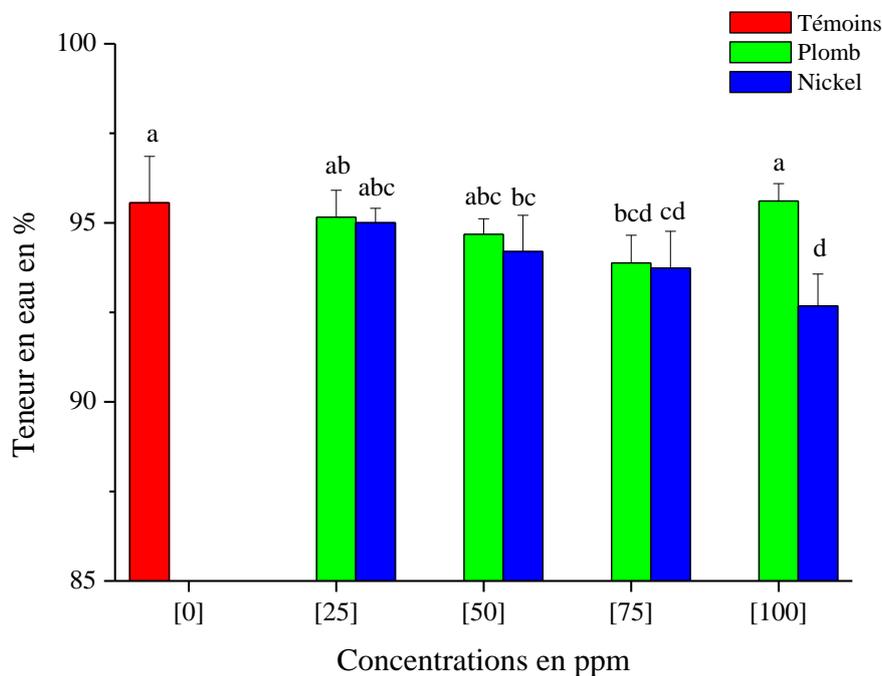


Figure 18 : Evolution des teneurs en eau moyennes des plantules de *Marrubium vulgare* L. en fonction des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en *Pb(NO₃)₂* et en *NiSO₄* appliquées au milieu de germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

La moyenne des teneurs en eau enregistrée chez les plantules témoins est de $95,56 \pm 1,3\%$. Celle des plantules traitées avec les différentes concentrations en plomb, ne semble pas s'écarter de celle enregistrée chez les plantules témoins, hormis légèrement lorsque le traitement est d'une concentration de [75 ppm]. On comprend bien que dans ce cas de figure, les plantules perdent un peu d'eau sous l'effet de la contrainte imposée par le plomb, mais qu'elles sont capables de réajuster leur contenu en eau comme c'est le cas lorsqu'on applique une concentration plus forte de [100 ppm]. Ici, la teneur en eau moyenne enregistrée a été réajustée jusqu'à une valeur de $95,61 \pm 0,5\%$ identique à celle des plantules témoins (**Fig. 18**).

Lorsqu'on considère le cas du nickel, la teneur en eau moyenne enregistrée diminue par deux fois lorsque les comparaisons sont établies avec les plantules témoins. Ainsi, une légère diminution de cette teneur moyenne en eau est constatée pour les deux concentrations les plus faibles [25 et 50 ppm] ; elle s'amplifie légèrement lorsque les concentrations sont portées à [75 et 100 ppm] (**Fig. 18**).

Lorsqu'on compare les teneurs moyennes en eau enregistrées pour les deux traitements, tout indique que les effets imposés sur cette teneur en eau par le plomb sont les mêmes que ceux imposés par le nickel, puisque le rapport Pb/Ni est de 1 du moins pour trois concentrations [25, 50 et 75 ppm] (**Tab. 3**).

Néanmoins, lorsque la concentration est de [100 ppm], le rapport Pb/Ni augmente légèrement. Cela se traduit par une teneur en eau moyenne plus importante dans le traitement au plomb que dans le traitement au Ni (**Tab. 3 & Fig. 18**).

Dans ce dernier cas de figure, l'incidence du nickel par sa forte concentration de [100 ppm] sur la teneur en eau moyenne des plantules de *M. vulgare* L. a été plus importante que celle imposée par le plomb à la même concentration.

Ici la question hypothétique qui se pose est la capacité de réajustement exprimée et opérée par les plantules de *M. vulgare* L. en présence du plomb, qui n'a pas pu vraisemblablement se dérouler en présence du nickel.

Tableau 3 : Teneurs moyennes en eau (en %) des plantules de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en plomb et nickel.

| | Témoins | 25 ppm | 50 ppm | 75 ppm | 100 ppm |
|---------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| <i>Pb(NO₃)₂</i> | $95,56 \pm 1,29$ | $95,16 \pm 0,75$ | $94,68 \pm 0,43$ | $93,88 \pm 0,77$ | $95,61 \pm 0,48$ |
| <i>NiSO₄</i> | | $95,00 \pm 0,40$ | $94,19 \pm 1,01$ | $93,74 \pm 1,02$ | $92,68 \pm 0,89$ |
| <i>Pb / Ni</i> | 1 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,03 |

IV-1-3- Contenu en sucres solubles des plantules de *Marrubium vulgare* L.

Les sucres solubles des plantules de *Marrubium vulgare* L. ont été dosés au 12^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination. Ces hydrates de carbone ont été exprimés en mg/g de poids frais et ils sont représentés dans la figure ci-dessous pour les témoins, les traités par les différentes concentrations en plomb et en nickel (**Fig. 19**).

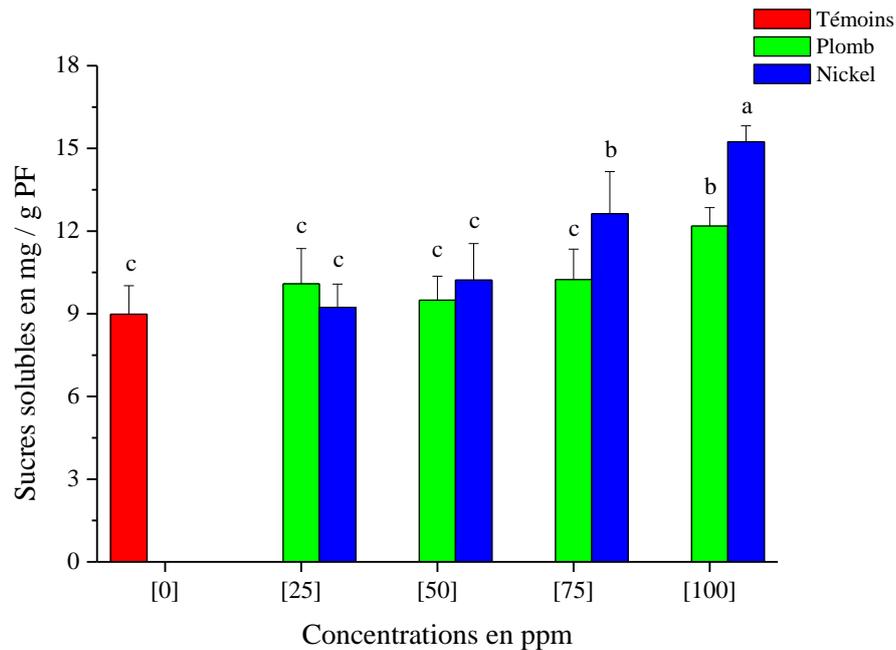


Figure 19 : Evolution des quantités moyennes en sucres solubles des plantules de *Marrubium vulgare* L. en fonction des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $Pb(NO_3)_2$ et en $NiSO_4$ appliquées au milieu de germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

Le contenu moyen en sucres solubles des plantules témoins est de $8,98 \pm 1,03$ mg/g PF. Il est significativement identique à celui des traités par le plomb aux concentrations de [25, 50 et 75 ppm]. En effet, les quantités dosées sont de $10,08 \pm 1,28$ mg/g PF pour la concentration de [25 ppm] ; de $9,49 \pm 0,87$ mg/g PF pour la concentration de [50 ppm] et de $10,24 \pm 1,10$ mg/g PF pour la concentration de [75 ppm]. En revanche, lorsqu'on applique une concentration de [100 ppm] en plomb, le contenu en sucres solubles passe à $12,18 \pm 0,67$ mg/g PF ; il est supérieur moyennement de 20% par rapport à celui des témoins et des traités par les 3 autres concentrations en plomb (**Fig. 19**).

Dans le cas du stress métallique imposé en utilisant dans le milieu de germination du nickel, le contenu en sucres solubles moyen reste identique à celui des plantules témoins

pour les 2 premières concentrations uniquement, à savoir les concentrations les plus faibles de [25 et 50 ppm], où l'on enregistre respectivement des quantités en sucres solubles de $9,23 \pm 0,84$ mg/g PF et de $10,21 \pm 1,32$ mg/g PF. Par contre, lorsque la concentration de l'élément métallique augmente, le contenu en sucres solubles ne fait qu'augmenter pour atteindre un contenu de $12,62 \pm 1,52$ mg/g PF pour la concentration de [75 ppm], ensuite un contenu de $15,24 \pm 0,57$ mg/g PF pour la concentration la plus forte de [100 ppm]. Dans ces deux derniers cas, les augmentations sont respectivement de 29% et de 41% par rapport au contenu en sucres solubles des plantules témoins (**Fig. 19**).

Lorsqu'on considère comparativement les contenus en sucres solubles des plantules entre les deux types de traitements, on trouve que la distinction est plus explicite non pas pour les deux premières concentrations les plus faibles, mais beaucoup plus lorsqu'on applique les deux concentrations les plus fortes, à savoir [75 et 100 ppm]. En effet, les rapports Pb/Ni dans ces cas de figure sont les plus bas de l'ordre de 0,80 (**Tab. 4**).

Tableau 4 : Contenu en sucres solubles (en mg/g de poids frais) des plantules de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en plomb et nickel.

| | Témoins | 25 ppm | 50 ppm | 75 ppm | 100 ppm |
|---------------------------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| <i>Pb(NO₃)₂</i> | $8,98 \pm 1,03$ | $10,08 \pm 1,28$ | $9,49 \pm 0,87$ | $10,24 \pm 1,10$ | $12,18 \pm 0,67$ |
| <i>NiSO₄</i> | | $9,23 \pm 0,84$ | $10,21 \pm 1,32$ | $12,62 \pm 1,52$ | $15,24 \pm 0,57$ |
| <i>Pb / Ni</i> | 1 | 1,09 | 0,92 | 0,81 | 0,79 |

IV-1-4- Contenu en protéines des plantules de *Marrubium vulgare* L.

Comme pour les sucres solubles, le contenu protéinique des plantules de *M. vulgare* L. a été dosé au 12^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination. Ce contenu a été exprimé en mg/g de poids frais et il a été représenté dans la figure ci-dessous englobant les témoins et les traités par les différentes concentrations en plomb d'une part et en nickel d'autre part (**Fig. 20**).

Si les plantules témoins mettent en exergue un contenu protéinique de $2,90 \pm 0,26$ mg/g PF. Celles issues des traitements au plomb montrent un contenu protéinique moindre que celui des plantules témoins et qui ne fait que diminuer lorsqu'on augmente les concentrations d'application de ce type de stress métallique. En effet, on enregistre une diminution d'environ 13,4% pour les concentrations de [25 et 50 ppm]. Ce pourcentage de diminution passe à 27,5% pour une concentration de [75 ppm] et à 47,5% pour la concentration la plus forte de [100 ppm] (**Fig. 20**).

Lorsqu'on applique du Ni sur les graines de *M. vulgare* L., les plantules qui en résultent ne font qu'augmenter leur contenu protéinique avec l'élévation de la concentration. En effet, l'augmentation est de 22,4% pour une application de [25 ppm] ; de 26,7% pour une application de [50 ppm] ; de 31,1% pour une application de [75 ppm] et de 36,6% pour une application de [100 ppm] (**Fig. 20**).

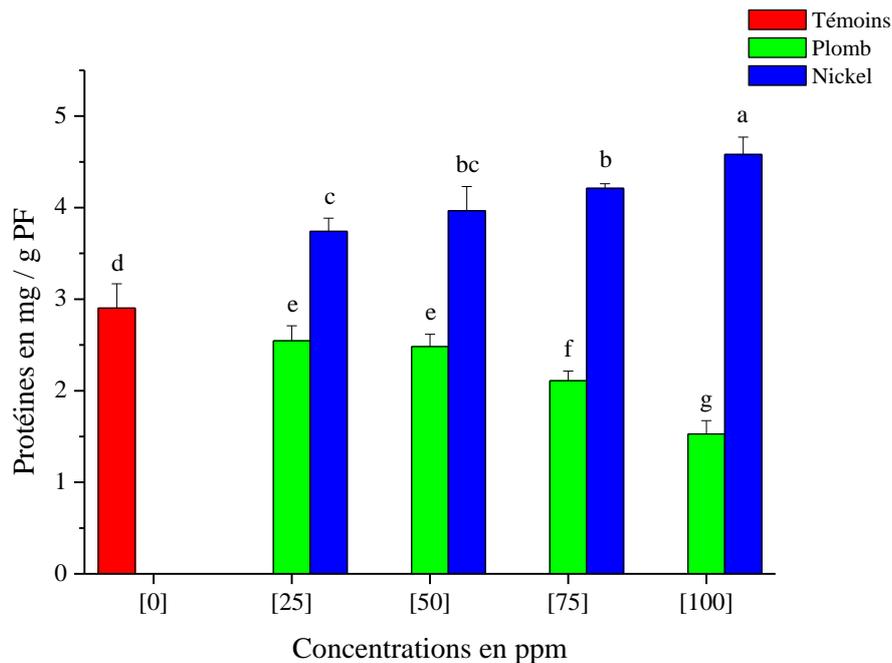


Figure 20 : Evolution des quantités moyennes en protéines des plantules de *Marrubium vulgare* L. en fonction des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $Pb(NO_3)_2$ et en $NiSO_4$ appliquées au milieu de germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

En comparant le contenu protéinique des plantules issues des 2 traitements, on trouve que le rapport Pb/Ni ne fait que diminuer avec l'augmentation de la concentration (**Tab. 5**).

Autrement, on estime à 1,5 fois plus le contenu protéinique des plantules issues des traitements au nickel que des plantules issues des traitements au plomb, et ce pour les concentrations les plus faibles de [25 et 50 ppm].

Ce contenu protéinique devient deux fois plus important chez les traités au nickel que chez les traités au plomb lorsqu'on augmente la concentration du traitement à [75 ppm].

Pour une application la plus forte de [100 ppm], le contenu protéinique devient trois fois plus important chez les traités au nickel que chez les traités au plomb.

Tableau 5 : Contenu en protéines (en mg/g de poids frais) des plantules de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en plomb et nickel.

| | Témoins | 25 ppm | 50 ppm | 75 ppm | 100 ppm |
|---------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <i>Pb(NO₃)₂</i> | 2,90 ± 0,26 | 2,54 ± 0,16 | 2,48 ± 0,13 | 2,10 ± 0,10 | 1,52 ± 0,14 |
| <i>NiSO₄</i> | | 3,74 ± 0,14 | 3,96 ± 0,26 | 4,21 ± 0,05 | 4,58 ± 0,18 |
| <i>Pb / Ni</i> | 1 | 0,68 | 0,62 | 0,49 | 0,33 |

IV-2- Discussion

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

La germination des graines de *M. vulgare* L. est retardée au troisième jour, un temps de latence est donc nécessaire pour enclencher le processus germinatif des graines témoins. Ceci est encore valable dans les cas des graines traitées avec le plomb ou avec le nickel. Il y a lieu de rappeler que les concentrations testées sont de [25, 50, 75 et 100 ppm].

La germination une fois enclenchée, sa progression était assez étalée dans le temps, du troisième au huitième jour. Une fois ce huitième jour atteint, le maximum de graines qui germent ne dépasse pas 60% au sein des graines témoins. Ce résultat obtenu est moins important que celui trouvé dans les travaux de **Yousfi & Djouder (2023)**. Ces auteurs ont travaillé sur les mêmes graines, de la même provenance et la capacité germinative atteinte au final culmine autour de 94% de graines qui germent. Pour expliquer cette différence de résultat, la longévité des graines est prépondérante dans ce cas de figure. Les auteurs cités ont considéré des graines fraîchement cueillies, pendant que nous avons fait nos tests sur des graines ayant épuisés une année depuis leur dernière récolte. Avec de tels graines, leur pouvoir germinatif a sensiblement diminué, de l'ordre de 36% d'après nos estimations.

Hormis cette capacité germinative moindre, il a été observé une stimulation de la germination lorsque nous avons utilisé un traitement métallique. Là où l'on s'attendait à une diminution du pouvoir germinatif, nous avons enregistré un rehaussement du nombre de graines qui germent au final. La capacité germinative obtenue au final est de l'ordre de 70% de graines qui arrivent à germer, notamment avec le traitement induit par une concentration de [100 ppm]. Cet effet améliorant a été observé dans le cas du plomb et du nickel.

Il n'y a pas lieu de comparer par rapport aux résultats obtenus par **Yousfi & Djouder (2023)**, qui ont testé dans leur cas des concentrations plus importantes [≥ 100 ppm]. Ces concentrations n'ont d'ailleurs pas entravé la capacité germinative des graines. La capacité germinative obtenue au final était pour toutes les concentrations testées de même ordre que ce qui a été obtenu pour chez les témoins.

Au caractère stimulant de la capacité germinative, nous avons remarqué relativement des temps moyens de germination plus courts chez les traités par rapport aux témoins. Ceci est encore plus valable lorsque le traitement était induit par le nickel que par le plomb. Cet état de fait n'a pas été obtenu par **Yousfi & Djouder (2023)**, où ils ont constaté que le temps moyen de germination ne changeait nullement entre les différents lots considérés, c'est-à-dire entre le lot des témoins comparativement à tous les traités par le plomb et par le nickel.

Par rapport aux travaux de recherche consultés, il est rapporté que le plomb entrave en général la germination, particulièrement celle des plantes cultivées. C'est ce qui est décrit à titre d'exemple pour *Zea mays* L. (**Zhang et al. 2018**) ; *Medicago sativa* (**Yahaghi et al. 2019**) ; *Triticum aestivum* (**Kanwal et al. 2020**) ; *Cynodon dactylon* (**Xiong et al. 2021**) ; *Sorghum bicolor* (**Osman and Fadhlallah, 2023**) et *Peltophorum pterocarpum* (**Rafat et al. 2023**)

Ainsi, dans le travail de **Osman & Fadhlallah (2023)** consacré à 3 cultivars différents de *Sorghum bicolor* (variétés rouge, blanche et *shahla*), montrent une capacité germinative qui diminue avec l'élévation de la concentration en Pb utilisée dans leur milieu de germination (100, 200, 400 et 800 mg L⁻¹). A cet effet, les variétés amendées par la plus forte concentration de 800 mg L⁻¹ induisent d'ailleurs près de 27,6 ; 18,5 et 32,14 de pourcentage de réduction de la germination, respectivement chez les variétés rouge, blanche et *shahla* (**Osman and Fadhlallah, 2023**).

La réduction de la capacité germinative est expliquée en premier lieu par l'influence négative exercée par les ions plomb sur les enzymes hydrolytiques, ainsi que sur la mobilité des réserves nutritives, comme les hydrates de carbone et les protéines, qui sont indispensables à l'embryon et de là à sa germination. En second lieu, l'effet inhibiteur des ions plomb s'exerce également sur la germination en modifiant la perméabilité sélective des systèmes membranaires (**Sengar et al. 2009 ; Singh et al. 2010 ; Osman and Fadhlallah, 2023**).

Dans tous les cas de figure, il y a lieu de noter que les effets du Pb sur la germination diffèrent d'une espèce à l'autre, de la concentration utilisée et de la durée d'exposition à ce stress (**Gupta et al. 2009 ; Gul et al. 2019**).

Par rapport au point relatif aux concentrations expérimentées, la germination des graines du marrube n'a pas été du tout entravée durant nos essais [25, 50, 75 et 100 ppm] ou durant les essais de **Yousfi & Djouder (2023)**, qui ont pourtant utilisé des concentrations sensiblement fortes [100, 200, 300, 400, 500 et 600 ppm]. De tels résultats qui s'opposent à ce qui a été avancé précédemment, rejoignent par contre plutôt ce qui a été trouvé par **Islam et al. (2007)** chez *Elsholtzia argyi* H., une espèce appartenant à la famille des Lamiacées, tout comme *Marrubium vulgare* L.

En effet, il a été rapporté qu'aux fortes concentrations, le Pb était paradoxalement capable d'accélérer la capacité germinative des graines de *Elsholtzia argyi* H. Néanmoins, cette germination ainsi rehaussée affecte sensiblement la croissance des racines (**Islam et al. 2007**). C'est ce qui a été d'ailleurs rapporté par **Yousfi & Djouder (2023)** qui ont relevé un brunissement sensible des radicules émergentes des germinations obtenues. Cet état de fait n'a pas été noté dans notre présent travail réalisé avec des concentrations plus faibles.

Dans le cas du traitement induit par le nickel, il a été rapporté des faits similaires au plomb, c'est-à-dire une phytotoxicité dans le cas où il est utilisé à de fortes concentrations et sur des variétés de plantes non tolérantes. Ce constat a été rapporté chez *Grevillea exul* (**Léon et al. 2005**), *Helianthus annuus* (**Ahmad et al. 2009**), *Brassica napus* (**Yang and Zhao, 2013**), *Abrus precatorius* (**Vyas, 2017**), *Triticum aestivum* L. (**Shweti et al. 2018**) et *Vigna unguiculata* L. (**Mujeeb et al. 2019**).

A titre d'exemple, une diminution de la germination des graines de *Vigna unguiculata* L. est constatée uniquement lorsqu'on utilise une concentration en nickel supérieure à 2,4 mM. L'ensemble des autres concentrations testées (0,6 ; 1,2 ; 1,8 et 2,4 mM) n'ont pas modifiés la germination des graines de cette espèce (**Mujeeb et al. 2019**).

En clair, utilisé aux faibles concentrations, le nickel n'entrave pas la capacité germinative des graines. Ce sont les fortes concentrations qui ont ce pouvoir inhibiteur sur la capacité germinative des graines. Exceptionnellement, il a été trouvé que les caryopses du riz (**Das et al. 1978**) et le maïs (**Seregin and Kozhevnikova, 2005**) germent même aux fortes concentrations en sels de Ni (10^{-2} M). Tout comme d'ailleurs ce qui a été trouvé par **Yousfi & Djouder (2023)** qui ont fait germer les graines de marrube en dépit de la présence de fortes concentrations en NiSO₄ avec néanmoins au final, un constat de brunissement des radicules émergentes plus encore apparentes que dans le cas du plomb. Dans notre contribution, le nickel utilisé aux faibles concentrations a rehaussé la germination et n'a pas nui aux radicules qui ont émergées.

On sait bien que le nickel est un élément qui figure parmi les éléments essentiels aux plantes, impliqué dans plusieurs processus liés au métabolisme. Il est aussi connu pour favoriser la germination notamment des plantules qui en sont issues en favorisant leur vigueur (**Srekanth et al. 2013**). C'est ce qui ressort des études consacrées aux espèces hyper accumulatrices du nickel, tels que *Alyssum* (**Homer et al. 1991**), *Echinochloa colona* L. (**Rout et al. 2000**) et *Medicago sativa* (**Peralta et al. 2001**).

L'inhibition de la germination induite par les fortes concentrations en nickel est manifeste sur les activités des amylases, des protéases et des ribonucléases. Moins de réserves nutritives en sont disponibles pour permettre le déroulement de la germination des graines. C'est ce qui est suggéré d'ailleurs par **Ahmad & Ashraf (2011)**. C'est comme d'ailleurs dans le cas d'un stress métallique induit par le plomb sur les graines en germination.

Sur un autre plan, **Hall (2002)** évoque l'inhibition de tous les processus pourvoyeurs en énergie indispensable à la germination des graines, du seul fait de la présence en excès du nickel. D'autre part, **Chen et al. (2009)** avancent le fait que la phytotoxicité du nickel s'exerce plutôt en empêchant les autres éléments minéraux essentiels d'interagir avec l'embryon pour permettre d'enclencher sa germination. De même, le stress oxydatif est évoqué dans ce contexte et entraverait également la germination des graines (**Chen et al. 2009**).

Comme évoqué dans le cas du plomb, l'influence du nickel sur la germination dépend aussi de type de l'espèce considérée, de la concentration utilisée, de temps d'exposition et aussi de la nature du sel de nickel administré (**Léon et al. 2005 ; Shweti et al. 2018 ; Yadav et al. 2018 ; Mujeeb et al. 2019**).

IV-2-2- Teneur en eau des plantules de *Marrubium vulgare* L.

La teneur en eau est un bon indicateur de l'état du statut hydrique au sein de la plante. Les plantes qui perdent de l'eau se caractérisent par une faible activité photosynthétique qui se répercute négativement sur leur morphologie et leur croissance. En rajoutant du plomb dans le milieu de germination des graines de *M. vulgare* L. à différentes concentrations, nous avons observé le maintien d'un état hydrique consistant pour les 2 concentrations les plus faibles ([25 et 50 ppm]), avant de fléchir d'environ 1,7% pour la concentration de ([75 ppm]), s'ensuit un réajustement qui s'opère pour la concentration la plus forte de ([100 ppm]), où la teneur en eau enregistrée est de même niveau que celle des plantules témoins.

En rajoutant du plomb à la concentration de 28,15 mg/kg, il a été observé une élévation de l'indice de la teneur relative en eau dans les tissus foliaires de *Spartina pectinata* Bosk ex Link. (77%) comparativement aux témoins (68%). Lorsque on augmente en revanche la concentration du plomb à 56,30 puis à 112,60 mg/kg, on constate une diminution de cette teneur en eau qui est respectivement de 57 et 58% (**Mikiciuk et al. 2018**).

Dans les travaux de **Yousfi & Djouder (2023)**, il a été noté que l'allongement des racines et des hypocotyles n'a pas été influencé par une utilisation du plomb à une concentration de [100 ppm]. L'influence négative s'exerce au-delà de la concentration de [100 ppm]. Le comportement positif des plantules du marrube à la concentration de [100 ppm] a été positivement corrélé au maintien de l'état hydrique des plantules. C'est ce qui revient dans plusieurs travaux qui rapportent que la toxicité due finalement aux effets du plomb, réduit la mobilisation des réserves nutritives retardant et/ou réduisant la formation de la radicule et son émergence ainsi que celle de la partie aérienne (**Chatterjee et al. 2004**). Dans ce contexte, la photosynthèse est également évoquée ainsi que la transpiration (**Qufei and Fashui, 2009**) ; le tout sous influence d'une balance hydrique et/ou des relations hydriques (**Rucińska-Sobkowiak et al. 2013**).

Ce n'est pas le cas avec le nickel qui n'a gardé constante la teneur en eau des plantules que pour les concentrations les plus faibles. Pour la concentration la plus forte de [100 ppm] en revanche, on a noté une perte de la teneur en eau à hauteur de 3% comparativement aux plantules témoins. Une telle perte influence négativement la croissance lorsque la présence de l'élément métallique demeure persistante. C'est ce qui a été rapporté par **Yousfi & Djouder (2023)**, qui ont noté une inhibition de la croissance racinaire ainsi que celle des axes hypocotylés assez importantes pour la seule concentration de [100 ppm] et un temps de culture prolongé d'une vingtaine de jours. Les concentrations les plus fortes ([> 100 ppm]) accentuent les pertes d'eau et mènent vers un brunissement des racines, qui ne poussent plus et qui restent amincies et frêles (**Yousfi & Djouder, 2023**).

Le nickel étant un élément qui ne favorise la croissance des plantules issues de la germination qu'aux faibles concentrations, pendant que les plus fortes concentrations affectent cette croissance en raison entre autres du non maintien des relations hydriques (**Kumar et al. 2021**). C'est ce qui est évoqué chez l'orge (**Rahman et al. 2005**), le tournesol (**Singh et al. 2004 ; Ahmad et al. 2009**), la tomate (**Kowalczyk et al. 2003**), le riz (**Maheshwari and Dubey, 2008**), le blé (**Shweti et al. 2018**) et le niébé (**Asagba et al. 2019 ; Mujeeb et al. 2019**).

IV-2-3- Contenu en sucres solubles des plantules de *Marrubium vulgare* L.

Pour assurer l'ajustement de la teneur en eau, le contenu en sucres solubles des plantules de *M. vulgare* L. augmente de 26% lorsque la concentration du plomb appliquée aux graines est la plus forte [100 ppm]. La quantité en sucres solubles augmente beaucoup plus (+39%) lorsque la concentration du nickel appliquée aux graines est de [100 ppm], sans que pour autant on observe un ajustement de la teneur en eau des plantules. Au contraire, dans ce cas 3% de teneur en eau sont perdues par comparaison à la teneur en eau des plantules témoins.

Le niveau en sucres solubles augmente chez des plantules de riz lorsqu'elles sont exposées au plomb. Ces sucres semblent exercer une fonction protectrice, agissant en tant qu'osmoprotecteurs et des stabilisateurs des structures membranaires, pour préserver l'homéostasie cellulaire contre le stress oxydatif engendré par le plomb (**Sharma and Dubey, 2005**). Chez le blé, la quantité en sucres solubles augmente également en présence du plomb (**Malik et al. 2021**). C'est ce qui est aussi énoncé pour *Avena sativa* L., dont la quantité en sucres solubles augmente de 19,9% et 23,2% pour respectivement des concentrations appliquées en plomb de 0,3 et 0,6 g/L (**Souahi et al. 2021**). Ces augmentations sont associées à la protection cellulaire et sont expliquées par l'absence de l'hydrolyse des hydrates de carbone ainsi qu'une synthèse *de novo*. C'est une indication d'un métabolisme des sucres qui n'est pas perturbé lorsque le plomb est présent dans le milieu (**Malik et al. 2021**).

Si des concentrations plus faibles en plomb stimulent l'augmentation du contenu en sucres solubles, les plus fortes concentrations influencent négativement l'accumulation des sucres solubles. C'est ce qui est observé dans le cas de *Lemna polyrrhiza*, où une concentration de 40 mg/L en plomb diminue de 73,8% la teneur en sucres solubles. Cette diminution est expliquée par une inhibition de la photosynthèse et/ou par une stimulation de la respiration (John et al. 2008).

Sur un autre plan, une étude menée sur *Oryza sativa* L. montre que les teneurs en amidon, sucres solubles et saccharose sont plus élevées au niveau des pousses de ces plantes traitées au nickel que chez les témoins. A titre indicatif, le traitement de 0,5 mmol/L augmente de 2,6 fois plus la teneur en amidon ; de 2,8 fois plus la teneur en sucres solubles et de 4 fois plus la teneur en saccharose (Moya et al. 1993). Inversement, la teneur en sucres solubles est réduite par un fort traitement au nickel chez *Brassica napus* L. (Ali et al. 2009), chez *Zea mays* (Nie et al. 2015) et chez *Oryza sativa* L. (Rizwan et al. 2017).

Pour Ali et al. (2009), la réduction des sucres solubles est plus importante chez les cultivars du colza sensibles au nickel que chez les résistants. Il y a lieu aussi de signaler que lorsque la quantité en sucres solubles augmente chez les plantules de riz traitées au nickel, il a été observé en parallèle une augmentation concomitante des activités des enzymes dégradant le saccharose. De tels résultats suggèrent que la toxicité du nickel chez les plantules de riz provoque une perturbation marquée du métabolisme des hydrates de carbone, entraînant une accumulation accrue des sucres solubles. Ces derniers pourraient servir de solutés compatibles dans les cellules en conditions de toxicité provoquée par le nickel (Mishra and Dubey, 2012).

Il convient de mentionner que le nickel a un impact plus important sur le transport des hydrates de carbone que sur la réduction de la photosynthèse menant vers une accumulation d'hydrates de carbone. En effet, des concentrations élevées en nickel trouvées dans les pousses et en particulier dans le chloroplaste étaient concomitantes avec une diminution de la recirculation des hydrates de carbone entre les parties aériennes et les racines. Des sucres transportés depuis les feuilles, étaient absents dans la coiffe racinaire du maïs traité avec 60 μ M de Ni. Il a été également démontré qu'en fonction de la recirculation des hydrates de carbone des parties aériennes, la croissance des racines était davantage inhibée que celle des pousses. L'augmentation de la longueur des cellules dans la zone d'expansion suggère également un manque de polysaccharides au niveau des parois cellulaires de l'apex de la racine (Moya et al. 1997).

De même, la faible densité de protéines dans l'apex de la racine, qui pourrait s'expliquer par le phénomène dans lequel les protéines remplacent les hydrates de carbone comme principaux substrats respiratoires après un manque de glucose, reflète également le transport réduit d'hydrates de carbone des feuilles vers les racines (Amari et al. 2017).

IV-2-4- Contenu en protéines des plantules de *Marrubium vulgare* L.

Ce qui a été déduit pour les sucres solubles ne s'observe pas dans le cas des protéines dosées au sein des plantules de *M. vulgare* L. dont les graines ont été au préalable traitées par différentes concentrations en plomb. En effet, le contenu protéinique ne fait que diminuer dans tous les cas testés, particulièrement aux concentrations les plus fortes [75 et 100 ppm].

Au contraire, l'augmentation des sucres solubles observée dans le cas du stress appliqué par la concentration de [100 ppm] en nickel est concomitante à une forte élévation du contenu protéinique aux mêmes conditions. L'augmentation enregistrée étant de 36% par rapport aux protéines des plantules témoins, presque de même ordre d'ailleurs que celle enregistrée pour les sucres solubles (39%).

Le plomb a la faculté d'interagir avec les protéines provoquant une diminution de leur contenu, particulièrement lorsqu'il est utilisé aux fortes concentrations. C'est ce qui ressort de l'analyse de plusieurs travaux dédiés à ce sujet (**Chatterjee et al. 2004 ; Garcia et al. 2006 ; Mishra et al. 2006 ; Piotrowska et al. 2009 ; Pourrut et al. 2011 ; Xia et al. 2019**).

La raison invoquée est en premier lieu liée aux effets induits par le plomb sur la production des espèces réactives de l'oxygène, de là l'installation d'un stress oxydatif, très préjudiciable aux membranes et aux protéines (**Gupta et al. 2009 ; Piotrowska et al. 2009**).

En second lieu, ce sont la diminution du pool des acides aminés, la perturbation du métabolisme azoté, l'utilisation de protéines dédiées à la détoxification du plomb, l'élévation de l'activité enzymatique de la ribonucléase qui sont entre autres incriminées et qui expliquent la réduction du contenu protéinique en présence du plomb (**Chatterjee et al. 2004 ; Gopal and Rizvi, 2008 ; Gupta et al. 2009 ; Pourrut et al. 2011**).

A la différence de l'action inhibitrice du plomb, le traitement au nickel favorise une augmentation du contenu protéinique particulièrement lorsqu'il n'est pas utilisé aux très fortes concentrations. Nous l'avons observé chez *Nasturtium officinale* R., où la teneur en protéines augmente dans les racines et les parties aériennes lorsque l'application en nickel ne dépasse pas 5 mg L⁻¹. Le contenu protéinique va diminuer lorsque les concentrations sont de 10 et 25 mg L⁻¹ (**Duman and Ozturk, 2010**). C'est ce qui se passe aussi chez *Elodea canadensis*, dont le contenu protéinique augmente lorsqu'on traite avec la concentration de 10 µmol L⁻¹ en Ni (**Maleva et al. 2009**).

Utilisé aux fortes concentrations, le nickel réduit le contenu protéinique. C'est ce qui a été trouvé par **Yousfi & Djouder (2023)** en dosant les protéines du marrube dont les graines ont germé avec de fortes concentrations en nickel ([≥ 100 ppm]). Ce stress endommage les protéines soit via le stress oxydatif (**Gajewska et al. 2006**), soit par modification de leur structure (**Seregin and Kozhevnikova, 2006**), soit également par leur hydrolyse favorisant un contenu en acides aminés plus élevé (**Ali et al. 2009**).

Pour **Hassan et al. (2019)**, un contenu en acides aminés plus élevé est susceptible de jouer un rôle dans la détoxification des métaux et pourraient protéger les plantes de leurs effets toxiques (**Hassan et al. 2019**). En effet, si on considère l'espèce hyper accumulatrice du nickel, *Thlaspi* par exemple, on a remarqué sa capacité intrinsèque à accumuler de la cystéine et du glutathion. On a observé dans ce cas un renforcement de la tolérance par rapport au stress oxydatif induit par le nickel (**Freeman et al. 2004**).

C'est également valable pour un autre acide aminé dont l'accumulation est favorisée par le nickel, il s'agit de l'histidine fortement accumulée chez le colza. Cet acide aminé aide au transport du nickel depuis les racines vers les parties aériennes où il est séquestré (**Hall, 2002**).

En conséquence, lorsque le stress induit par le nickel est assez fort, le contenu protéinique peut être hydrolysé en acides aminés susceptibles de jouer un rôle très important en réponse au stress, particulièrement chez les espèces qui tolèrent mieux le nickel (**Clemens, 2001 ; Hall, 2002 ; Hassan et al. 2019**).

CONCLUSION

V- Conclusion

Notre objectif premier est d'analyser l'impact de deux métaux lourds, plomb et nickel, sur le pouvoir germinatif des graines de *Marrubium vulgare* L. en utilisant 4 concentrations différentes. Ces concentrations doivent être les moins nocives possibles, pour permettre après la germination des graines, l'émergence de plantules sur lesquelles on peut suivre de près quelques caractéristiques liées à leur contenu en eau, en protéines et en sucres solubles. Le tout après l'incidence d'un stress métallique censé être outrepassé ou non par les plantules.

Sur la germination des graines, le plomb tout comme le nickel, n'ont pas entravé la capacité germinative obtenue au final. Au contraire, le plomb et le nickel ont un effet stimulant sur cette germination en améliorant le pouvoir germinatif des graines du marrube. Cette amélioration s'est traduite par un pourcentage cumulé moyen de germination obtenu au final qui tourne de 70%. Plus élevé que celui obtenu chez les graines témoins et qui est de 57%. Il y a lieu de signaler que notre travail a été effectué sur des graines récoltées une année avant. Les tests de germination effectués dès leur cueillette donnaient comme même un pourcentage de germination de 94%. Il y a lieu donc de considérer la longévité des graines de marrube lorsqu'il faut considérer un autre travail sur cette espèce.

Si la capacité germinative obtenue au final n'a pas permis de distinguer entre le traitement au plomb et le traitement au nickel, qui aboutissent au final au même résultat, le temps moyen de germination obtenu pour chacun des traitements tranche en faveur de celui imposé par le nickel plutôt que celui imposé par le plomb. En effet, les temps moyens de germination les plus courts sont obtenus pour toutes les concentrations testées avec le traitement au nickel.

En fonction de la germination des graines pour les différents lots testés, le maximum de graines germe entre le troisième et le huitième jour. Nous avons laissé du temps pour que la phase de croissance prend le relais de la phase *stricto sensu* et que surtout la racine se développe suffisamment, pour pouvoir entamer notre second travail d'investigation.

Ce travail a concerné donc des plantules d'une douzaine de jours sur lesquelles nous avons commencé une investigation de leur teneur en eau. Ce paramètre est très important puisqu'il est le meilleur indicateur de l'état de santé d'une plante. Sa gestion est primordiale pour pouvoir espérer réaliser convenablement tous les processus liés à la croissance et au développement dont la photosynthèse.

L'analyse de la teneur en eau des plantules de marrube issues des graines préalablement traitées par du plomb a montré une gestion adéquate de ce facteur. Les plantules étaient parfaitement capables de le maintenir au même niveau que celui enregistré chez les témoins lorsque les concentrations utilisées sont faibles, sinon de pouvoir le réajuster si jamais la concentration de l'élément métallique utilisé est un peu plus forte, de l'ordre de [100 ppm].

Ce n'est pas le même comportement des plantules issues des germinations traitées par le nickel, du moins pour la concentration la plus élevée de [100 ppm]. Ici, la teneur en eau des plantules diminue de 3% par comparaison aux plantules témoins. Ce n'est pas négligeable puisqu'une telle perte est préjudiciable au processus de croissance et de développement d'une plante si jamais elle ne met pas en place les mécanismes qui sont à même de la stopper. C'est dans ce contexte que nous avons choisi de pousser nos investigations par des dosages menés sur deux métabolites des plus importants, les sucres solubles et les protéines.

L'analyse d'abord des sucres solubles donne un aperçu intéressant sur le comportement de nos plantules. C'est le reflet de l'état du déroulement de la photosynthèse, de la respiration, des échanges, d'une hydrolyse, du transport et/ou de la mise en réserve de ces hydrates de carbone. Ainsi, les plantules de marrube issues du traitement au plomb et qui procèdent à un réajustement et/ou maintien de leur état hydrique indemne se caractérisent par des niveaux assez élevés en sucres solubles, 26% de plus que les plantules témoins. Paradoxalement, les plantules issues du traitement au nickel et qui perdent 3% de leur teneur en eau, sont aussi capables d'élever leur contenu en sucres solubles, de beaucoup plus d'ailleurs que dans le cas précédent, à hauteur de 39% de plus que les plantules témoins.

Si les sucres solubles sont connus pour leur rôles d'osmoprotecteurs, de stabilisateurs des structures membranaires et préservent l'homéostasie cellulaire lorsque le stress métallique imposé est du plomb. Ils peuvent provenir d'une néosynthèse ou bien d'une activation des enzymes hydrolytiques qui favorisent une accumulation des sucres solubles lorsqu'il s'agit d'un stress induit par le nickel.

Au plan des protéines, le contenu trouvé s'oppose à celui déterminé pour les sucres solubles du moins pour le traitement au plomb. En effet, le contenu protéinique des plantules issues des graines préalablement traitées au plomb, diminue particulièrement aux concentrations les plus fortes. L'ajustement osmotique opéré par les plantules en cas du stress métallique induit par le plomb a un prix. Ce prix est énergétique et il est aidé par une accumulation accrue de sucres solubles et des acides aminés néosynthétisés ou bien provenant de l'hydrolyse protéolytique.

Dans le cas du nickel, les plantules de marrube voient leur contenu protéinique augmenter tout autant que celui des sucres solubles. L'élévation enregistrée pour les protéines est de 36% plus importante que celle des plantules témoins, celle des sucres solubles est de 39% plus importante que celle des plantules témoins. Dans ces cas, la toxicité due au nickel pourrait être préjudiciable aux plantules via vraisemblablement l'installation d'un stress oxydatif. Les réponses des plantules doivent être dirigés contre ce stress grâce aux protéines accumulées dédiés à la détoxification. Ces suppositions doivent être vérifiés par encore d'amples investigations.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Ácimović M., Jeremić K., Salaj N., Gavarić N., Kiproovski B., Sikora V., Zeremski T. **2020**. *Marrubium vulgare* L.: A phytochemical and pharmacological overview. *Molecules* 24;25(12):2898. DOI: [10.3390/molecules25122898](https://doi.org/10.3390/molecules25122898)

Ahmad M.S., Hussain M., Ashraf M., Ahmad R., Ashraf M.Y. **2009**. Effect of nickel on seed germinability of some elite sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. *Pakistan Journal of Botany* 41(9):1871-1882. ISSN: 0556-3321

Ahmad M.S., Ashraf M. **2011**. Essential roles and hazardous effects of nickel in plants. In: Whitacre D. (Ed.) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Springer, New York, NY. Vol. 214:125-167. DOI: [10.1007/978-1-4614-0668-6_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0668-6_6)

Alam M.M., Hayat S., Ali B., Ahmad A. **2007**. Effect of 28-homobrassinolide treatment on nickel toxicity in *Brassica juncea*. *Photosynthetica* 45(1) :139-142. DOI: [10.1007/s11099-007-0022-4](https://doi.org/10.1007/s11099-007-0022-4)

Ali M.A., Ashraf M., Athar H.R. **2009**. Influence of nickel stress on growth and some important physiological/biochemical attributes in some diverse canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Journal of Hazardous Materials* 172(2-3):964-969 .DOI: [10.1016/j.jhazmat.2009.07.077](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.07.077)

Amari T., Ghnaya T., Abdelly C. **2017**. Nickel, cadmium and lead phytotoxicity and potential of halophytic plants in heavy metal extraction. *South African Journal of Botany*, 111, 99–110. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.03.011>

Anyanwu B., Ezejiolor A., Igweze Z., Orisakwe O. **2018**. Heavy Metal Mixture Exposure and Effects in Developing Nations: An Update. *Toxics*, 6(4),65. DOI: [10.3390/toxics6040065](https://doi.org/10.3390/toxics6040065)

Asagba S.O., Apiamu A., Enokpe F.E. **2019**. Effects of nickel toxicity on the indices of germination and Ca²⁺ ATPase activity in cowpea plant (*Vigna unguiculata*). *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* 23(6) :1147-1152. DOI: [10.4314/jasem.v23i6.23](https://doi.org/10.4314/jasem.v23i6.23)

Aslam M., Aslam A., Sheraz M., Ali B., Ulhassan Z., Najeeb U., Zhou W., Ali Gill R. **2020**. Lead toxicity in cereals: mechanistic insight into toxicity, mode of action, and management. *Front. Plant Sci.* 11. DOI: [10.3389/fpls.2020.587785](https://doi.org/10.3389/fpls.2020.587785)

Bazzaz F.A., Rolfe G.L., Windle P. **1974**. Differing sensitivity of corn and soybean photosynthesis and transpiration to lead contamination. *Journal of Environmental Quality* 3(2):156-158. DOI: [10.2134/jeq1974.00472425000300020015x](https://doi.org/10.2134/jeq1974.00472425000300020015x)

Boisvert S., Joly D., Leclerc S., Govindachary S., Harnois J., Carpentier R. **2007**. Inhibition of the oxygen-evolving complex of photosystem II and depletion of extrinsic polypeptides by nickel. *Biometals* 20(6) :879-889. DOI : [10.1007/s10534-007-9081-z](https://doi.org/10.1007/s10534-007-9081-z)

Bouterfas K., Mehdadi Z., Latreche A., Cherifi K. **2013**. Autoécologie du Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) et caractérisation de la biodiversité végétale dans le Djebel de Tesala (Algérie nord-occidentale). *Ecologia Mediterranea* 39(2) :39-57. www.persee.fr/doc/ecmed_0153-8756_2013_num_39_2_1279

Bradford M.M. **1976**. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254. DOI: [10.1006/abio.1976.9999](https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999)

Burton K.W., Morgan E., Roig A. **1984**. The influence of heavy metals on the growth of sitka-spruce in South Wales forests. II. Greenhouse experiments. *Plant and Soil* 78:271-282. DOI: [10.1007/BF02450361](https://doi.org/10.1007/BF02450361)

Chatterjee C., Dube B.K., Sinha P., Srivastava P. **2004**. Detrimental effects of lead phytotoxicity on growth, yield, and metabolism of rice. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 35(1-2):255-265. DOI: [10.1081/CSS-120027648](https://doi.org/10.1081/CSS-120027648)

Chatterjee S., Choudhury B. **2023**. A review on the toxic effect of nickel induced stress on growth and development in rice seedling (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Advanced Research*, 11(04), 1680–1688. DOI: [10.21474/ijar01/16839](https://doi.org/10.21474/ijar01/16839)

Chen C., Huang D., Liu J. **2009**. Functions and toxicity of nickel in plants: Recent advances and future prospects. *Clean Soil Air Water* 37(4-5) :304-313. DOI: [10.1002/clen.200800199](https://doi.org/10.1002/clen.200800199)

Clemens S. **2001**. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* 212:475-486. DOI: [10.1007/s004250000458](https://doi.org/10.1007/s004250000458)

Collin S., Baskar A., Geevarghese D., Syed Ali M., Bahubali P., Choudhary R., Lvov V., Tovar G., Senatov F., Koppala S. **2022**. Bioaccumulation of lead (Pb) and its effects in plants: A review. *Journal of Hazardous Materials Letters* 3, 100064. DOI: [10.1016/j.hazl.2022.100064](https://doi.org/10.1016/j.hazl.2022.100064)

Das P.K., Kar M., Mishra D. **1978**. Nickel nutrition of plants: I. Effect of nickel on some oxidase activities during rice (*Oryza sativa* L.) on seed germination. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 90:225-233. DOI: [10.1016/S0044-328X\(78\)80235-9](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(78)80235-9)

Dhiman S., Khanna K., Kumar P., Bhardwaj T., Devi K., Sharma N., Sharma P., Arora P., Kapoor N., Sharma A., Bhardwaj R. **2023**. Divulging Molecular Perspectives of Plant Defense Machinery Under Heavy Metal Toxicity. *Journal of Plant Growth Regulation*. DOI: [10.1007/s00344-023-11138-1](https://doi.org/10.1007/s00344-023-11138-1)

Doran J.C., Gunn B.V. **1987**. Treatments to promote seed germination in Australian acacias. In the series analytic: Australian acacias in developing countries, edited by J.W. Turnbull. *Proceedings of the International Workshop, Forestry Training Centre, Gympie, Qld., Australia, August 4-7, 1986*:57-63. http://www.aciar.gov.au/sites/default/files/legacy/node/13315/pr16_pdf_11161.pdf

Duman F., Ozturk F. **2010**. Nickel accumulation and its effect on biomass, protein content and antioxidative enzymes in roots and leaves of watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.). *Journal of Environmental Sciences*. 22(4):526-532. ISSN:1001-0742 <http://pdf.sciencedirectassets.com/273588/1-s2.0-S1001074210X00055>

Ejaz U., Khan S.M., Khalid N., Ahmad Z., Jehangir S., Fatima Rizvi Z., Lho L.H., Han H., Raposo A. **2023**. Detoxifying the heavy metals: a multipronged study of tolerance

strategies against heavy metals toxicity in plants. *Frontiers in Plant Science*, 14. DOI: [10.3389/fpls.2023.1154571](https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1154571)

Evenari M. **1957**. The physiological action and biological importance of germination inhibitors. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 11:21-44. PMID: 13486465

Freeman J.L., Persans M.W., Nieman K., Albrecht C., Peer W., Pickering I.J., Salt D.E. **2004**. Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators. *The Plant Cell* 16(8) :2176-2191. DOI: [10.1105/tpc.104.023036](https://doi.org/10.1105/tpc.104.023036)

Gajewska E., Sklodowska M., Slaba M., Mazur J. **2006**. Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots. *Biologia Plantarum* 50 :653-659. DOI: [10.1007/s10535-006-0102-5](https://doi.org/10.1007/s10535-006-0102-5)

Gajewska E., Sklodowska M. **2008**. Differential biochemical responses of wheat shoots and roots to nickel stress: antioxidative reactions and proline accumulation. *Plant Growth Regulation* 54 :179-188. DOI: [10.1007/s10725-007-9240-9](https://doi.org/10.1007/s10725-007-9240-9)

Garcia J.S., Gratão P.L., Azevedo R.A., Arruda M.A. **2006**. Metal contamination effects on sunflower (*Helianthus annuus* L.) growth and protein expression in leaves during development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(22) :8623-8630. DOI: [10.1021/jf061593I](https://doi.org/10.1021/jf061593I)

Gopal R., Rizvi A.H. **2008**. Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrient in radish. *Chemosphere* 70(9) :1539-1544. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2007.08.043](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.08.043)

Gul I., Manzoor M., Silvestre J., Rizwan M., Hina K., Kallerhoff J., Arshad M. **2019**. EDTA-assisted phytoextraction of lead and cadmium by pelargonium cultivars grown on spiked soil. *International Journal of Phytoremediation* 21(2) :101-110. DOI: [10.1080/15226514.2018.1474441](https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1474441)

Gupta D.K., Nicoloso F.T., Schetinger M.R., Rossato L.V., Pereira L.B., Castro G.Y., Srivastava S., Tripathi R.D. **2009**. Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown *Zea mays* seedlings under moderate lead stress. *Journal of Hazardous Materials* 172(1) :479-484. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2009.06.141](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.06.141)

Hall J.L. **2002**. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53(366) :1-11. DOI: [10.1093/jexbot/53.366.1](https://doi.org/10.1093/jexbot/53.366.1)

Hassan M.U., Chattha M.U., Khan I., Chattha M.B., Aamer M., Nawaz M., Ali A., Khan M.A., Khan T.A. **2019**. Nickel toxicity in plants: reasons, toxic effects, tolerance mechanisms, and remediation possibilities – a review. *Environmental Science and Pollution Research* 26:12673-12688. DOI: [10.1007/s11356-019-04892-x](https://doi.org/10.1007/s11356-019-04892-x)

Hayat J., Akodad M., Moumen A., Baghour M., Skalli A., Ezrari S., Belmalha S. **2020**. Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon* 6(11): e05609. DOI: [10.1016/j.heliyon.2020.e05609](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05609)

Homer F.A., Morrison R.S., Brooks R.R., Clemens J., Reeves R.D. **1991**. Comparative studies of nickel, cobalt, and copper uptake by some nickel hyperaccumulators of the genus *Alyssum*. *Plant and Soil* 138(2) :195-205. <https://www.jstor.org/stable/42937507>

Ilyas M. Z., Sa K. J., Ali M. W., Lee J. K. 2023. Toxic effects of lead on plants: integrating multi-omics with bioinformatics to develop Pb-tolerant crops. *Planta*,259(1). [DOI:10.1007/s00425-023-04296-9](https://doi.org/10.1007/s00425-023-04296-9)

Islam E., Yang X., Li T., Liu D., Jin X., Meng F. **2007**. Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. *Journal of Hazardous Materials* 147(3):806-816. [DOI: 10.1016/j.jhazmat.2007.01.117](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.01.117)

John R., Ahmad P., Gadgil K., Sharma S. **2008**. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. *Plant, Soil and Environment*, 54(No. 6), 262–270. [DOI: 10.17221/2787-pse](https://doi.org/10.17221/2787-pse)

Julve P. **2021**. Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. www.tela-botanica.org/projets/phytosociologie

Kabata-Pendias A., Pendias H. **2001**. Trace elements in soils and plants. Chapter 5: trace elements in plants. 3rd edition. CRC Press LLC, 88-113. ISBN: 0.8493-1575-1

Kanwal A., Farhan M., Sharif F., Hayyat M.U., Shahzad L., Ghafoor G.Z. **2020**. Effect of industrial wastewater on wheat germination, growth, yield, nutrients and bioaccumulation of lead. *Scientific Reports* 10(1) :11361. [DOI: 10.1038/s41598-020-68208-7](https://doi.org/10.1038/s41598-020-68208-7)

Kowalczyk J., Borkowska-Burnecka J., Cieslak K. **2003**. Heavy metals accumulation in greenhouse tomatoes. *Acta Horticulturae* 613 :57-60. [DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.613.5](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.613.5)

Kumar A., Jigyasu D.K., Kumar A., Subrahmanyam G., Mondal R., Shabnam A.A., Cabral-Pinto M.M., Malyan S.K., Chaturvedi A.K., Gupta D.K., Fagodiya R.K., Khan S.A., Bhatia A. **2021**. Nickel in terrestrial biota: comprehensive review on contamination, toxicity, tolerance and its remediation approaches. *Chemosphere* 275, 129996. [DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.129996](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129996)

Kumar S., Wang M., Liu Y., Fahad S., Qayyum A., Jadoon S., Chen Y., Zhu G. **2022**. Nickel toxicity alters growth patterns and induces oxidative stress response in sweetpotato. *Front. Plant Sci.* 13, 1054924. [DOI : 10.3389/fpls.2022.1054924](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1054924)

Léon V., Rabier J., Notonier R., Barthelémy R., Moreau X., Bouraïma-Madjèbi S., Viano J., Pineau R. **2005**. Effects of three nickel salts on germinating seeds of *Grevillea exul* var. *rubiginosa*, an endemic serpentine proteaceae. *Annals of Botany* 95(4) :609-618. [DOI: 10.1093/aob/mci066j.biortech.2009.12.031](https://doi.org/10.1093/aob/mci066j.biortech.2009.12.031)

Lodhi S., Vadnere G., Sharma V., Usman M.R. 2017. *Marrubium vulgare* L.: A review on phytochemical and pharmacological aspects. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology* 6(4) :429-452. [DOI: 10.5455/jice.20170713060840](https://doi.org/10.5455/jice.20170713060840)

Maftouh A., El Fatni O., Ben Moussa A., Boukir F., Noor us Subha W. **2024**. Heavy Metals in the Ecosystem; Sources and Their Effects. *Dans Heavy Metal Remediation* (p. 27–44). Springer Nature Switzerland. DOI: [10.1007/978-3-031-53688-5_2](https://doi.org/10.1007/978-3-031-53688-5_2)

Maheshwari R., Dubey R.S. **2008**. Inhibition of ribonuclease and protease activities in germinating rice seeds exposed to nickel. *Acta Physiologiae Plantarum* 30 :863-872. DOI: [10.1007/s11738-008-0192-0](https://doi.org/10.1007/s11738-008-0192-0)

Maleva M.G., Nekrasova G.F., Malec P., Prasad M.N., Strzalka K. **2009**. Ecophysiological tolerance of *Elodea Canadensis* to nickel exposure. *Chemosphere* 77(3):392-398. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2009.07.024](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.07.024)

Malik M., Mahmood S., Noreen S., Abid R., Ghaffar S., Zahra S., Shah T., Ahmad A. **2021**. Lead contamination affects the primary productivity traits, biosynthesis of macromolecules and distribution of metal in durum wheat (*Triticum durum* L.). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(9), 4946–4956. DOI: [10.1016/j.sjbs.2021.06.093](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.06.093)

Malkowski E., Kita A., Galas W., Karcz W., Kuperberg M. **2002**. Lead distribution in corn seedlings (*Zea mays* L.) and its effect on growth and the concentrations of potassium and calcium. *Plant Growth Regulation* 37 :69-76. DOI: [10.1023/A:1020305400324](https://doi.org/10.1023/A:1020305400324)

McCready R. M., Guggolz J., Silviera V., Owens H. S. 1950. Determination of Starch and Amylose in Vegetables. *Analytical Chemistry*, 22(9), 1156–1158. DOI: [10.1021/ac60045a016](https://doi.org/10.1021/ac60045a016)

Michel J., Abd Rani N., Husain K. **2020**. A review on the potential use of medicinal plants from Asteraceae and Lamiaceae plant family in cardiovascular diseases. *Front Pharmacol* 11 :852. DOI : [10.3389/fphar.2020.00852](https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00852)

Mikiciuk M., Rokosa M., Sinica B. **2018**. Effects of lead and cadmium ions on water balance parameters and content of photosynthetic pigments of prairie cordgrass (*Spartina pectinata* Bosk ex Link.). *Agronomy Science*, 73(3), 5–13. <https://doi.org/10.24326/as.2018.3.1>

Mishra S., Srivastava S., Tripathi R.D., Kumar R., Seth C.S., Gupta D.K. **2006**. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere* 65(6):1027-1039. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2006.03.033](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.03.033)

Mishra P., Dubey R. S. **2012**. Excess nickel modulates activities of carbohydrate metabolizing enzymes and induces accumulation of sugars by upregulating acid invertase and sucrose synthase in rice seedlings. *BioMetals*, 26(1), 97–111. DOI: [10.1007/s10534-012-9597-8](https://doi.org/10.1007/s10534-012-9597-8)

Morel J.L., Mench M., Guckert A. **1986**. Measurement of Pb²⁺, Cu²⁺ and Cd²⁺ binding with mucilage exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. *Biology and Fertility of Soils* 2:29-34. <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/52616850/> © Springer-Verlag 1986

Moya J. L., Ros R., Picazo I. **1993**. Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. *Photosynthesis Research*, 36(2), 75–80. DOI: [10.1007/BF00016271](https://doi.org/10.1007/BF00016271)

Mujeeb A., Iqbal M.Z., Shafiq M., Kabir M., Farooqi Z.R. **2019**. The toxic effect of various concentration of nickel on seed germination and growth of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *World Journal of Pharmaceutical and Medical Research* 5(3):58-63. ISSN: 2455-3301

Mustafa A., Zulfiqar U., Mumtaz M.Z., Radziemska M., Haider F. U., Holatko J., Hammershmidt T., Naveed M., Ali H., Kintl A., Saeed Q., Kucerik J., Brtnicky M. **2023**. Nickel (Ni) phytotoxicity and detoxification mechanisms: A review. *Chemosphere*, 328, 138574 DOI: [10.1016/j.chemosphere.2023.138574](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138574)

Nedjimi B., Souissi Z., Guit B., Daoud Y. **2020**. Differential effects of soluble salts on seed germination of *Marrubium vulgare* L. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 17:100250. DOI: [10.1016/j.jarmap.2020.100250](https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2020.100250)

Nie J., Pan Y., Shi J., Guo Y., Yan Z., Duan X., Xu M. **2015**. A Comparative Study on the Uptake and Toxicity of Nickel Added in the Form of Different Salts to Maize Seedlings. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(12), 15075–15087. DOI: [10.3390/ijerph121214972](https://doi.org/10.3390/ijerph121214972)

Osman H.E., Fadhllallah R.S. **2023**. Impact of lead on seed germination, seedling growth, chemical composition, and forage quality of different varieties of *Sorghum*. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences* 9:77-86. DOI: [10.1007/s43994-022-00022-5](https://doi.org/10.1007/s43994-022-00022-5)

Peralta J.R., Gardea-Torresdey J.L., Tiemann K.J., Gomez E., Arteaga S., Rascon E., Parsons J.G. **2001**. Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 66(6) :727-734. DOI: [10.1007/s001280069](https://doi.org/10.1007/s001280069)

Perrono P. **1999**. Les micropolluants métalliques des boues de stations d'épuration urbaine et l'épandage agricole. Mém. D.U.E.S.S., D.E.P., Univ. Picardie, Amiens.

Piotrowska A., Bajguz A., Godlewska-Żylkiewicz B., Czerpak R., Kamińska M. **2009**. Jasmonic acid as modulator of lead toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). *Environmental and Experimental Botany* 66(3):507-513. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2009.03.019](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.03.019)

Pourrut B., Shahid M., Dumat C., Winterton P., Pinelli E. 2011. Lead Uptake, Toxicity, and Detoxification in Plants. *Dans Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (p. 113–136). Springer New York. DOI: [10.1007/978-1-4419-9860-6_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9860-6_4)

Pourrut B., Shahid M., Douay F., Dumat C., Pinelli E. **2013**. Molecular Mechanisms Involved in Lead Uptake, Toxicity and Detoxification in Higher Plants. *Dans Heavy Metal Stress in Plants* (p. 121–147). Springer Berlin Heidelberg. DOI : [10.1007/978-3-642-38469-1_7](https://doi.org/10.1007/978-3-642-38469-1_7)

Qufei L., Fashui H. **2009**. Effects of Pb²⁺ on the structure and function of photosystem II of *Spirodela polyrrhiza*. *Biological Trace Element Research* 129(1-3) :251-260. DOI: [10.1007/s12011-008-8238-8](https://doi.org/10.1007/s12011-008-8238-8)

- Rafat A., Iqbal M.Z., Shafiq M. 2023. The toxicity Effects of Lead and Zinc on Seed germination and plant Growth of Common Leguminous Yellow Flame Roadside Tree species *Peltophorum pterocarpum* (DC.) Baker ex Heyne. *New York law journal*. DOI: [10.7537 / marsnys 151022.02](https://doi.org/10.7537/marsnys151022.02)
- Rahman H., Sabreen S., Alam S., Kawai S. 2005. Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution. *Journal of Plant Nutrition* 28(3) :393-404. DOI: [10.1081/PLN-200049149](https://doi.org/10.1081/PLN-200049149)
- Rani M., Vikas K. R., Lathwal M., Kamboj A. 2024. Effect and Responses of Lead Toxicity in Plants. *Dans Lead Toxicity Mitigation: Sustainable Nexus Approaches* (p. 211–241). Springer Nature Switzerland. DOI: [10.1007/978-3-031-46146-0_10](https://doi.org/10.1007/978-3-031-46146-0_10)
- Redondo-Gómez S., Mateos-Naranjo E., Davy A.J., Fernández-Muñoz F., Castellanos E.M., Luque T., Figueroa M.E. 2007. Growth and photosynthetic responses to salinity of the salt-marsh shrub *Atriplex portulacoides*. *Annals of Botany* 100(3):555-563. DOI: [10.1093/aob/ mcm119](https://doi.org/10.1093/aob/mcm119)
- Rizwan M., Imtiaz M., Dai Z., Mehmood S., Adeel M., Liu J., Tu S. 2017. Nickel stressed responses of rice in Ni subcellular distribution, antioxidant production, and osmolyte accumulation. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(25), 20587–20598. DOI: [10.1007/s11356-017-9665-2](https://doi.org/10.1007/s11356-017-9665-2)
- Romanowska E., Igamberdiev A.U., Parys E., Gardeström P. 2002. Stimulation of respiration by Pb²⁺ in detached leaves and mitochondria of C3 and C4 plants. *Physiologia Plantarum* 116 :148-154. ISSN 0031-9317
- Rout G.R., Samantaray S., Das P. 2000. Effects of chromium and nickel on germination and growth in tolerant and non-tolerant populations of *Echinochloa colona* (L.) Link. *Chemosphere* 40(8) :855-859. DOI: [10.1016/s0045-6535\(99\)00303-3](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(99)00303-3)
- Rucińska-Sobkowiak R., Nowaczyk G., Krzesłowska M., Rabęda I., Jurga S. 2013. Water status and water diffusion transport in lupine roots exposed to lead. *Environmental and Experimental Botany* 87 :100-109. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2012.09.012](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.09.012)
- Selvaraj K. 2018. Effect of Nickel Chloride on the Growth and Biochemical Characteristics of Phaseolus Mungol. *JOJ Sciences*, 1(2). DOI: [10.19080/jojs.2018.01.555556066](https://doi.org/10.19080/jojs.2018.01.555556066)
- Sengar R.S., Gautam M., Sengar R.S., Garg S.K., Sengar K., Chaudhary R. 2009. Lead stress effects on physiobiochemical activities of higher plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 196 :73-93. DOI: [10.1007/978-0-387-78444-1_3](https://doi.org/10.1007/978-0-387-78444-1_3)
- Seregin I.V., Ivanov V.B. 2001. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 48(4) :523-544. DOI: [10.1023/ A :1016719901147](https://doi.org/10.1023/A:1016719901147)
- Seregin I.V., Kozhevnikova A.D., Kazyumina E.M., Ivanov V.B. 2003. Nickel toxicity and distribution in maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology* 50:711-717. DOI: [10.1023/A :1025660712475](https://doi.org/10.1023/A:1025660712475)

Seregin I.V., Shpigun L.K., Ivanov V.B. **2004**. Distribution and toxic effects of cadmium and lead on maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology* 51(4) :525-533. DOI: [10.1023/B: RUPP.0000035747.42399.84](https://doi.org/10.1023/B:RUPP.0000035747.42399.84)

Seregin I.V., Kozhevnikova A.D. **2005**. Distribution of cadmium, lead, nickel, and strontium in imbibing maize caryopses. *Russian Journal of Plant Physiology* 52 :565-569. DOI: [10.1007/s11183-005-0084-8](https://doi.org/10.1007/s11183-005-0084-8)

Seregin I.V., Kozhevnikova A.D. **2006**. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 53(2) :257-277. DOI: [10.1134/S1021443706020178](https://doi.org/10.1134/S1021443706020178)

Shahzad B., Tanveer M., Rehman A., Cheema S. A., Fahad S., Rehman S., Sharma A. 2018. Nickel; whether toxic or essential for plants and environment – A review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 132, 641–651. DOI: [10.1016/j.plaphy.2018.10.014](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.10.014)

Sharma P., Dubey R.S. **2005**. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(1):35-52. DOI: [10.1590/S1677-04202005000100004](https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100004)

Shweti, Kumar A., Verma J.S. **2018**. Effects of nickel chloride on germination and seedling growth of different wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.) cultivars. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7(4) :2227-2234. ISSN: 2278-4136

Singh R., Tripathi R.D., Dwivedi S., Kumar A., Trivedi P.K., Chakrabarty D. **2010**. Lead bioaccumulation potential of an aquatic macrophyte *Najas indica* are related to antioxidant system. *Bioresource Technology* 101 :3025-3032. DOI: [10.1016/j.biortech.2009.12.031](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.031)

Singh S., Saxena R., Pandey K., Bhatt K., Sinha S. **2004**. Response of antioxidants in sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown on different amendments of tannery sludge: its metal accumulation potential. *Chemosphere* 57(11) :1663-1673. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2004.07.049](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.07.049)

Souahi H., Chebout A., Akrouit K., Massaoud N., Gacem R. **2021**. Physiological responses to lead exposure in wheat, barley and oat. *Environmental Challenges*, 4,100079. DOI: [10.1016/j.envc.2021.100079](https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100079)

Sreekanth T.V., Nagajyothi P.C., Lee K.D., Prasad T.N. **2013**. Occurrence, physiological responses and toxicity of nickel in plants. *International Journal of Environmental Science and Technology* 10(5) :1129-1140. DOI: [10.1007/s13762-013-0245-9](https://doi.org/10.1007/s13762-013-0245-9)

Stefanov K., Seizova K., Popova I., Petkov V., Kimenov G., Popov S. **1995**. Effect of lead ions on the phospholipid composition in leaves of *Zea mays* and *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Plant Physiology* 147(2) :243-246. DOI: [10.1016/S0176-1617\(11\)81511-7](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81511-7)

Tchounwou P. B., Yedjou C.G., Patlolla A.K., Sutton D.J. 2012. Heavy metal toxicity and the environment. *Dans Experientia supplementum* (p.133-164). Springer Basel. DOI: [10.1007/978-3-7643-8340-4_6](https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6)

van Assche F., Clijsters H. **1990**. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant, Cell & Environment* 13(3) :195-206. DOI: [10.1111/j.1365-3040.1990.tb01304.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1990.tb01304.x)

Verma S., Dubey R.S. **2003**. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science* 164:645-655. DOI: [10.1016/S0168-9452\(03\)00022-0](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00022-0)

Vyas M.K. **2017**. Changes in seedling growth and biochemical contents in *Abrus precatorius* L. under nickel treatment. *UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences* 5(3) :14-18. DOI: [10.20510/ukjpb/5/i3/155961](https://doi.org/10.20510/ukjpb/5/i3/155961)

Walker C.D., Graham R.D., Madison J.T., Cary E.E., Welch R.M. **1985**. Effects of Ni deficiency on some nitrogen metabolites in cowpeas (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Plant Physiology* 79(2) :474-479. DOI: [10.1104/pp.79.2.474](https://doi.org/10.1104/pp.79.2.474)

Weckbecker G., Cory J.G. **1988**. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters* 40(3) :257-264. DOI: [10.1016/0304-3835\(88\)90084-5](https://doi.org/10.1016/0304-3835(88)90084-5)

Wierzbicka M., Antosiewicz D. **1993**. How lead can easily enter the food chain – a study of plant roots. *Science of The Total Environment* 134(supplement 1) :423-429. DOI: [10.1016/S0048-9697\(05\)80043-9](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(05)80043-9)

Wierzbicka M., Obidzińska J. **1998**. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. *Plant Science*, 137(2), 155–171. DOI: [10.1016/s0168-9452\(98\)001381](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(98)001381)

Xia C., Hong L., Yang Y., Yanping X., Xing H., Gang D. **2019**. Protein changes in response to lead stress of lead-tolerant and lead-sensitive industrial hemp using SWATH technology. *Genes* 10(396) :16 pages. DOI : [10.3390/genes10050396](https://doi.org/10.3390/genes10050396)

Xiong Z., Yang J., Zhang K. **2021**. Effects of lead pollution on germination and seedling growth of turfgrass, *Cynodon dactylon*. *Pakistan Journal of Botany* 53(6) :2003-2009. DOI: [10.30848/PJB2021-6\(6\)](https://doi.org/10.30848/PJB2021-6(6))

Yabrir B. **2019**. Essential oil of *Marrubium vulgare*: Chemical composition and biological activities. A review. *Natural Product Sciences* 25(2):81-91. DOI: [10.20307/nps.2019.25.2.81](https://doi.org/10.20307/nps.2019.25.2.81)

Yadav K.K., Gupta N., Kumar A., Reece L.M., Singh N., Rezaia S., Khan S.A. **2018**. Mechanistic understanding and holistic approach of phytoremediation: A review on application and future prospects. *Ecological Engineering* 120 :274-298. DOI: [10.1016/j.ecoleng.2018.05.039](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.05.039)

Yahaghi Z., Shirvani M., Nourbakhsh F., Pueyo J.J. **2019**. Uptake and effects of lead and zinc on alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth: Role of plant growth promoting bacteria. *South African Journal of Botany* 124 :573-582. DOI: [10.1016/j.sajb.2019.01.006](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.01.006)

Yang Q.S., Zhao Y. **2013**. Effect of Co²⁺ and Ni²⁺ on seed germination and seedling growth of oilseed rape. *Advanced Materials Research* 807-809 :976-979. DOI:10.4028/www.scientific.net/AMR.807-809.976

Yousfi L., Djouder Y. **2023**. Étude des effets du plomb et du nickel sur l'efficacité germinative des graines et sur les premiers stades de croissance des plantules de *Marrubium vulgare* L. (Mémoire de Master). Université A. Mira -Bejaia, Bejaia, Algérie.

Yusuf M., Fariduddin Q., Hayat S., Ahmad A. **2010**. Nickel: An Overview of Uptake, Essentiality and Toxicity in Plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86(1), 1–17. DOI:10.1007/s00128-010-0171-1

Zhang Y., Deng B., Li Z. **2018**. Inhibition of NADPH oxidase increases defense enzyme activities and improves maize seed germination under Pb stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 158 :187-192. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.04.028

Zhao F., Chen Y.P., Salmaki Y., Drew B., Wilson T., Scheen A.C., Celep F., Bräuchler C., Bendiksby M., Wang Q., Min D.Z., Peng H., Olmstead R., Li B., Xiang C.L. **2021**. An updated tribal classification of Lamaiaceae based on plastome phylogenomics. *BMC Biology* 19,2 (2021). DOI : 10.1186/s12915-020-00931-z

Zidat S. **2016**. Imyan n Tensawt – Plantes de Kabylie / herbier imagé des plantes de Kabylie. *Editions Innexsys, Luxembourg* 212 pages. ISBN 978-99959-0-205-6

Zulfiqar U., Farooq M., Hussain S., Maqsood M., Hussain M., Ishfaq M., Ahmad M., Anjum M.Z. **2019**. Lead toxicity in plants: impacts and remediation. *Journal of Environmental Management* 250:109557. DOI: 10.1016/j.envman.2019.109557



Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer les effets du plomb (Pb) et du nickel (Ni) sur la germination des graines de *Marrubium vulgare* L., et d'en voir les conséquences sur les plantules qui en sont issues, par rapport à leur teneur en eau, leur contenu en sucres solubles et en protéines. Le Pb et le Ni sont utilisés dans le milieu de germination à des concentrations de [25, 50, 75 et 100 ppm], administrés sous forme respectivement de nitrate de plomb [Pb(NO₃)₂] et de sulfate de nickel [NiSO₄].

La germination nécessite un temps de latence de 3 jours et le maximum de graines qui germent est atteint au 8^{ème} jour. Hormis pour la concentration la plus faible qui n'améliore pas la capacité germinative des graines, les concentrations de [50, 75 et 100 ppm] rehaussent cette capacité, tout en raccourcissant les temps moyens de germination par comparaison aux graines témoins. Aussi, si l'effet sur la capacité germinative est identique pour les 2 traitements, les temps moyens de germination sont plus courts avec le Ni qu'avec le Pb.

Les plantules issues des différentes germinations gardent leur teneur en eau lorsqu'il s'agit du traitement au Pb. Avec le Ni, cette teneur en eau diminue notamment de 3% lorsqu'il s'agit du traitement le plus fort de [100 ppm]. Leur contenu en sucres solubles n'augmente dans le cas du traitement au Pb que pour la concentration de [100 ppm]. Il augmente plus lorsqu'il s'agit du traitement au Ni pour deux concentrations testées de [75 et 100 ppm]. Pour ce qui est du contenu protéinique, sa diminution est constatée lorsqu'il s'agit du Pb pour l'ensemble des concentrations testées. Inversement, le traitement au Ni ne fait qu'augmenter ce contenu, notamment avec l'élévation de la concentration appliquée.

Mots-clés : *Marrubium vulgare* L. ; plomb ; nickel ; germination, teneur en eau ; sucres solubles ; protéines.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of lead (Pb) and nickel (Ni) on the germination of *Marrubium vulgare* L. seeds, and to assess the consequences for the resulting seedlings in terms of their water content, soluble sugar content and protein content. Pb and Ni were used in the germination medium at concentrations of [25, 50, 75 and 100 ppm], administered in the form of lead nitrate [Pb(NO₃)₂] and nickel sulphate [NiSO₄].

Germination requires a lag time of 3 days and the maximum number of germinating seeds is reached on day 8. With the exception of the lowest concentration, which did not improve the germination capacity of the seeds, concentrations of [50, 75 and 100 ppm] improved this capacity, while shortening the average germination times compared with the control seeds. Although the effect on germination capacity was identical for the 2 treatments, the average germination times were shorter with Ni than with Pb.

The seedlings from the various germinations retained their water content when treated with Pb. With Ni, this water content fell by 3% in the case of the highest treatment of [100 ppm]. Their soluble sugar content only increases with Pb treatment at a concentration of [100 ppm]. It increases more in the case of Ni treatment for the two concentrations tested, [75 and 100 ppm]. Protein content decreased with Pb treatment for all the concentrations tested. Conversely, Ni treatment only increased this content, particularly as the concentration applied increased.

Keywords: *Marrubium vulgare* L., lead, nickel, germination, water content, soluble sugars, proteins.