

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 Cd / Cr**

Présenté par :

HAMOUM Louiza & KHEYAR Halima

Soutenu le : 03 Juillet 2024

Devant le jury composé de :

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

Année universitaire : 2023 / 2024

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce mémoire n'a été possible que grâce à la participation de plusieurs personnes pour qui nous voudrions témoigner de toute notre gratitude.

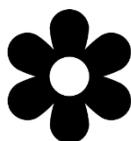
On voudrait tout d'abord adresser toute notre reconnaissance au directeur de ce mémoire *Mr Benadjaoud Ali*. On le remercie de nous avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.

Nos remerciements sont aussi pour *Mme Ali Hussein Alaa* pour son aide précieuse lors de la rédaction de ce mémoire, pour sa disponibilité et ses multiples conseils.

On tient à remercier *Mr Dadach M.* qui nous a aidé lors de notre partie pratique et qui a accepté aimablement d'être membre de notre jury de soutenance en dépit de sa très grande charge.

On tient aussi à remercier *Mme Farhi – Bouadam B.* d'avoir accepté de présider ce jury de soutenance. Nous en sommes très honorées de la voir parmi nous dans ce jury.

Enfin, pour l'ensemble du personnel technique du laboratoire de biotechnologie de l'université de Bejaia, pour nous avoir accordé leur confiance et leur accueil chaleureux.



DEDICACES

C'est avec fierté que

Je dédie ce travail à mes chers **parents**, qui sont toujours présents pour m'encourager, me donner de la volonté à continuer et qui n'ont jamais cessé de formuler prières à mon égard

Mes **frères** et mes **sœurs** pour leur soutien moral, ainsi que toute la famille *Hamoum* et *Kheramsia* et toutes les personnes qui m'ont soutenu de près ou de loin pour l'élaboration de ce mémoire

Et bien sûr ma binôme **Halima** pour son aide et son sérieux.

Que Dieu vous bénisse toujours.

LOUIZA



DEDICACES

A mes chers parents

Mon père et ma mère, qui sont toujours présents pour
m'encourager et me donner de la volonté à continuer
et qui m'ont transmis la vie et l'amour

Ma jolie sœur *Nihad*

Mon mari *Abderahman*

Et toute la famille *Kheyar*

Sans oublier ma binôme *Louiza* pour son soutien moral
et son aide

HALIMA



| | |
|---|--------------------------------|
| % | Pourcentage |
| °C | Degré Celsius |
| ± | Plus ou moins |
| [] | Concentration |
| λ | Longueur d'onde |
| BSA | Bovine Sérum Albumine |
| Cd | Cadmium |
| Cd(NO₃)₂ | Nitrate de cadmium |
| Cr | Chrome |
| ETM | Élément trace métallique |
| Fig. | Figure |
| K₂Cr₂O₇ | Potassium dichromate |
| L. | Linné |
| mn | Minute |
| 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 | 02 |
| II.1. <i>Marrubium vulgare</i> L. | 02 |
| II.1.1. Classification hiérarchique et étymologie | 02 |
| II.1.2. Distribution géographique | 02 |
| II.1.3. Description botanique | 03 |
| II.1.4. Ecologie et propagation | 04 |
| II.1.5. Composition chimique et usages thérapeutiques | 04 |
| II.2. Métaux lourds | 05 |
| II.2.1. L'élément métallique chrome | 06 |
| II.2.1.1. Propriétés du chrome | 06 |
| II.2.1.2. Phytotoxicité liée au chrome | 06 |
| II.2.1.3. Réponses apportées à la phytotoxicité liée au chrome | 08 |
| II.2.2. L'élément métallique cadmium | 10 |
| II.2.2.1. Propriétés du cadmium | 11 |
| II.2.2.2. Phytotoxicité liée au cadmium | 11 |
| II.2.2.3. Réponses apportées à la phytotoxicité liée au cadmium | 12 |
| III. Matériel & Méthodes | 13 |
| III.1. Matériel | 13 |
| III.1.1. Matériel végétal | 13 |
| III.1.1.1. Origine des graines | 13 |
| III.1.1.2. Traitement des graines | 13 |
| III.1.1.3. Mise à germination des graines | 13 |
| III.1.1.4. Plantules issues des germinations | 14 |
| III.1.2. Préparation des solutions métalliques | 15 |
| III.1.2.1. Solution de dichromate de potassium | 15 |
| III.1.2.2. Solution de nitrate de cadmium | 15 |
| III.2. Méthodes | 16 |
| III.2.1. Méthodes appliquées à la germination | 16 |
| III.2.1.1. Pourcentages cumulés moyens de germination | 16 |
| III.2.1.2. Pourcentages finaux de germination | 16 |
| III.2.1.3. Temps moyens de germination | 16 |
| III.2.2. Détermination de la teneur en eau des plantules | 16 |

| | |
|--|-----------|
| III.2.3. Extraction et dosage des sucres solubles | 17 |
| III.2.3.1. Principe | 17 |
| III.2.3.2. Extraction | 17 |
| III.2.3.3. Dosage | 18 |
| III.2.3.4. Courbe étalon | 18 |
| III.2.4. Extraction et dosage des protéines | 18 |
| III.2.4.1. Principe | 18 |
| III.2.4.2. Extraction | 18 |
| III.2.4.3. Dosage | 18 |
| III.2.4.4. Courbe étalon | 19 |
| III.2.5. Étude statistique | 19 |
| IV. Résultats & Discussion | 20 |
| IV.1. Résultats | 20 |
| IV.1.1. Suivi de la germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 20 |
| IV.1.1.1. % cumulés moyens de germination des graines traitées au $K_2Cr_2O_7$ | 20 |
| IV.1.1.2. % cumulés moyens de germination des graines traitées au $Cd(NO_3)_2$ | 21 |
| IV.1.1.3. % cumulés moyens finaux de germination des graines témoins et traitées | 22 |
| IV.1.1.4. Temps moyens de germination des graines témoins et traitées | 24 |
| IV.1.1.5. Effets sur la germination des traitements au chrome vs cadmium | 25 |
| 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. | 28 |
| IV.1.4. Contenu en protéines des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 30 |
| IV.2. Discussion | 31 |
| IV.2.1. Germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 31 |
| IV.2.2. Teneur en eau des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 34 |
| IV.2.3. Contenu en sucres solubles des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 35 |
| IV.2.4. Contenu en protéines des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 36 |
| V. Conclusion | 38 |
| VI. Références bibliographiques | 40 |

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 01 | Carte de distribution de <i>Marrubium vulgare</i> L. à l'échelle mondiale. Source de la carte : https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/107397 | 03 |
| 02 | Plante entière, feuilles (a) et fleurs (b) de <i>Marrubium vulgare</i> L. Source : Nedjimi et al. 2020. | 03 |
| 02 | Fruit en akène (c) et graines (d) de <i>Marrubium vulgare</i> L. Source : Nedjimi et al. 2020. | 04 |
| 03 | Processus de phytoremédiation du chrome. Source : Sinha et al. 2018 ; Wu et al. 2018 In Han et al. 2023. | 09 |
| 04 | Mécanismes d'absorption, de translocation et de stockage du chrome. La figure montre une diffusion passive du Cr(III), active du Cr(VI) à l'intérieur de la cellule et la formation d'un complexe stable au niveau vacuolaire. Pour résister aux ROS produits par la réduction du Cr(VI), la cellule initie un mécanisme de défense antioxydant et maintient l'homéostasie cellulaire. Source : Lopez-Bucio et al. 2022 In Han et al. 2023. | 10 |
| 05 | Absorption, translocation, accumulation et effets toxiques du cadmium sur la croissance et le développement des plantes. Source : Alsafran et al. 2022. | 11 |
| 06 | Localisation géographique de la zone d'échantillonnage des akènes de <i>Marrubium vulgare</i> L. | 13 |
| 07 | Graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. avant la mise à germination (photo de gauche) et leur développement en plantules une douzaine de jours après (photo de droite). | 14 |
| 08 | Présentation des cristaux de dichromate de potassium et ses quelques caractéristiques physico-chimiques. Source : http://reptox.cnesst.gouv.qc.ca | 15 |
| 09 | Présentation des cristaux de nitrate de cadmium tétrahydraté et ses quelques caractéristiques physico-chimiques. Source : http://reptox.cnesst.gouv.qc.ca | 15 |
| 10 | Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de glucose à 200 µg/mL (densité optique lue à 630 nm). | 17 |
| 11 | 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). | 19 |

-
- 12** Evolution des % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations en $K_2Cr_2O_7$ [25, 50, 75 et 100 ppm] en fonction du temps. **20**
- 13** Evolution des % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations en $Cd(NO_3)_2$ [25, 50, 75 et 100 ppm] en fonction du temps. **22**
- 14** Effets des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $Cd(NO_3)_2$ et en $K_2Cr_2O_7$ 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 $\alpha = 0,05$. **23**
- 15** Effets des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $Cd(NO_3)_2$ et en $K_2Cr_2O_7$ sur les temps moyens 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**
- 16** Evolution des teneurs en eau moyennes des plantules de *Marrubium vulgare* L. en fonction des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $Cd(NO_3)_2$ et en $K_2Cr_2O_7$ appliquées au milieu de germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$. **27**
- 17** 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 $Cd(NO_3)_2$ et en $K_2Cr_2O_7$ appliquées au milieu de germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$. **29**
- 18** Evolution des quantités moyennes en protéines des plantules de *Marrubium vulgare* L. en fonction des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $Cd(NO_3)_2$ et en $K_2Cr_2O_7$ appliquées au milieu de germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$. **30**

| N° | Titre | Page |
|-----------|--|-------------|
| 01 | Pourcentages cumulés moyens enregistrés au 5 ^{ème} jour du suivi de la germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en chrome et en cadmium. | 25 |
| 02 | 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 chrome et en cadmium. | 26 |
| 03 | Temps moyens de germination des graines de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en chrome et en cadmium. | 26 |
| 04 | Teneurs en eau moyennes (en %) des plantules de <i>Marrubium vulgare</i> L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en chrome et en cadmium. | 28 |
| 05 | 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 chrome et en cadmium. | 29 |
| 06 | 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 chrome et en cadmium. | 31 |

INTRODUCTION

I- Introduction

L'industrie a favorisé une élévation des métaux lourds dans l'environnement qui nous entoure, ce qui est en soi une préoccupation et une menace pour les ressources en eau, les sols et tous les règnes des vivants procaryotes et eucaryotes, et ce par l'intermédiaire des chaînes alimentaires (Mitra et al. 2022).

Ces métaux lourds pour ne citer que le cadmium, le mercure et le chrome ; ne sont pas des éléments essentiels et se révèlent phytotoxiques aux concentrations les plus faibles. D'autres éléments sont au contraire essentiels à la croissance et au métabolisme des plantes, mais seulement aux faibles concentrations, c'est le cas entre autres du cuivre et du zinc. Ils deviennent phytotoxiques aux concentrations les plus fortes (Raychaudhuri et al. 2021).

De nombreux travaux ont vu le jour sur les effets phytotoxiques du cadmium. Idem pour le chrome. Tous les aspects de vie d'une plante, de la germination à la croissance puis à la productivité de biomasse ont été passés en revue en présence de faibles et/ou de fortes concentrations. L'influence de ces éléments est dose-dépendante et s'exerce en fonction de l'espèce considérée (Zulfiqar et al. 2022 ; 2023).

Sur ce dernier point, toutes les études liées à la thématique des métaux lourds essaient de mettre en exergue les pouvoirs intrinsèques des plantes à neutraliser la toxicité de tels éléments. Ces stratégies de tolérance développées par les métallobytes et/ou les espèces hyper accumulatrices convergent vers des solutions qui sont à même de répondre aux questions les plus préoccupantes, celles liées à la dépollution des sols via le processus de la phytoremédiation. Ce processus est une voie alternative, moins coûteuse, plus extensive et plus respectueuse de la nature (Shen et al. 2022).

C'est ce qui a déterminé notre choix de travail consacré à une espèce bien présente dans notre environnement, assez tolérante et très intéressante au vu de ce qu'elle renferme notamment comme composés bioactifs (Yabrir, 2019 ; Aćimović et al. 2020). Il s'agit d'une herbacée vivace de la famille des Lamiacées, *Marrubium vulgare* L. dont nous souhaitons connaître son comportement vis-à-vis de deux métaux lourds, cadmium et chrome. Nos investigations porteront d'abord sur le pouvoir germinatif exprimé par les graines, puis sur l'incidence de tels métaux sur les plantules qui en sont issues. Dans ce contexte nous analyserons leur teneur en eau, leur contenu en sucres solubles et leur contenu protéinique.

Pour mener un tel travail, le choix a été porté sur une utilisation de 4 concentrations différentes [25, 50, 75 et 100 ppm] en cadmium et en chrome. La forme choisie pour le cadmium est le nitrate de cadmium [Cd(NO₃)₂], pour le chrome c'est le dichromate de potassium [K₂Cr₂O₇].

**SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

II- Synthèse bibliographique

II-1- *Marrubium vulgare* L.

Le marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) est une espèce assez commune du bassin méditerranéen (Djahra et al. 2013). Elle appartient à la famille des Lamiacées ou Labiées, une famille très cosmopolite, bien fournie en espèces (7000 espèces et 236 genres), aussi bien herbacées que ligneuses et dont l'aire de répartition est assez vaste (Bahammou et al. 2019). C'est une famille bien représentée par des espèces d'un très grand intérêt sur le plan économique, nous citerons ici le thym, la sarriette, le serpolet, le romarin, la sauge, l'origan et la menthe (Carović-Stanko et al. 2016 ; Lodhi et al. 2017).

II-1-1- Classification hiérarchique et étymologie

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

- **Règne** : Plantae
- **Sous-Règne** : Viridaeplantae
- **Classe** : Equisetopsida
- **Clade** : Spermatophyta
- **Sous-Classe** : Magnoliidae
- **Ordre** : Lamiales
- **Famille** : Lamiaceae
- **Genre** : *Marrubium*
- **Espèce** : *Marrubium vulgare* L.

Marrubium dérive des deux termes : "mar", signifie amer ; et "rob", signifie beaucoup. Ces termes expriment d'ailleurs la grande amertume des extraits de cette espèce lorsqu'ils sont pris en tisane. Sa dénomination pourrait également provenir du nom de l'ancienne ville Italienne "Maria urbs". L'espèce est connue sous l'appellation de *Marriouth* en Algérie (Zidat, 2016), de marrube blanc en France et de *white Horehound* en Angleterre (Aćimović et al. 2020).

II-1-2- Distribution géographique

On rencontre *M. vulgare* un peu partout de par le monde. Elle pousse dans presque toutes les régions d'Europe, particulièrement au centre et au sud. Elle est commune en Afrique du nord, un peu en Afrique du sud et en Asie centrale ; introduite dans les deux Amériques, nord et sud (Fig. 1). C'est une espèce qu'on rencontre sur les bords de chemins, les prés secs et les terrains vagues. Elle est assez attirante par son odeur semblable à celle du thym (Lodhi et al. 2017).

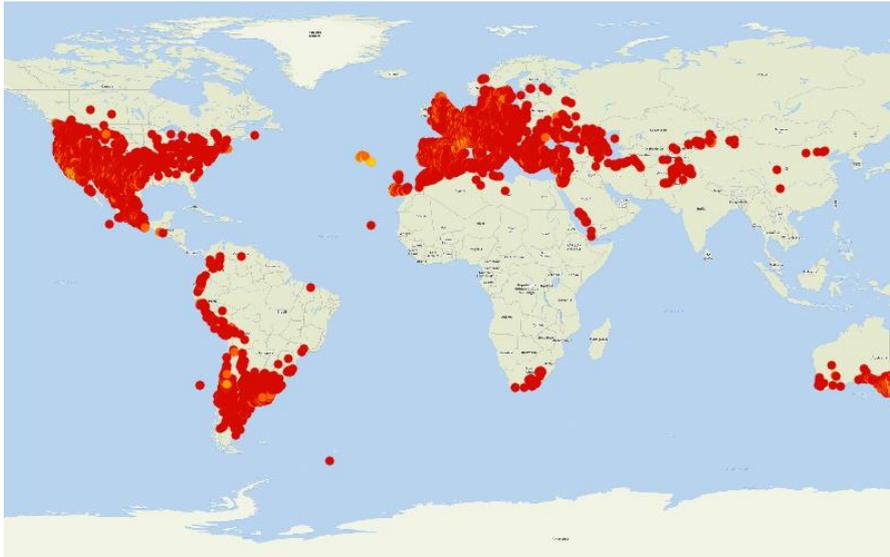


Figure 1 : Carte de distribution de *Marrubium vulgare* L. à l'échelle mondiale. Source de la carte : https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/107397

II-1-3- Description botanique

La marrube blanc est une plante herbacée vivace, caractérisée par son odeur musquée comme celle du thym. Sa couleur est verdâtre et atteint facilement 45 à 70 cm de haut. Ses tiges sont dressées et ses feuilles sont duveteuses, d'un aspect froissé, à bord crénelé et dentelé, vert jaunâtre sur la face supérieure et vert blanchâtre sur la face inférieure (**Fig. 2a**).

Ses fleurs sont nombreuses et recouvertes d'un feutrage de poils blancs et fins qui leur donne un aspect laineux. Elles sont blanches, de 12 à 15 mm de long, une corolle à deux lèvres dont l'inférieure est trilobée et la supérieure dilobée ainsi qu'un calice à 10 dents courtes et crochues (**Fig. 2b**).

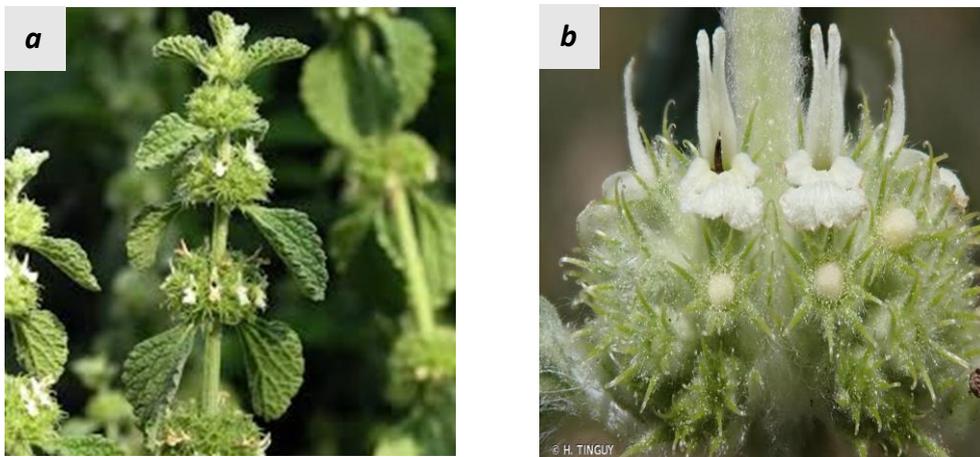


Figure 2 : Plante entière, feuilles (a) et fleurs (b) de *Marrubium vulgare* L. Source : Nedjimi et al. 2020.

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

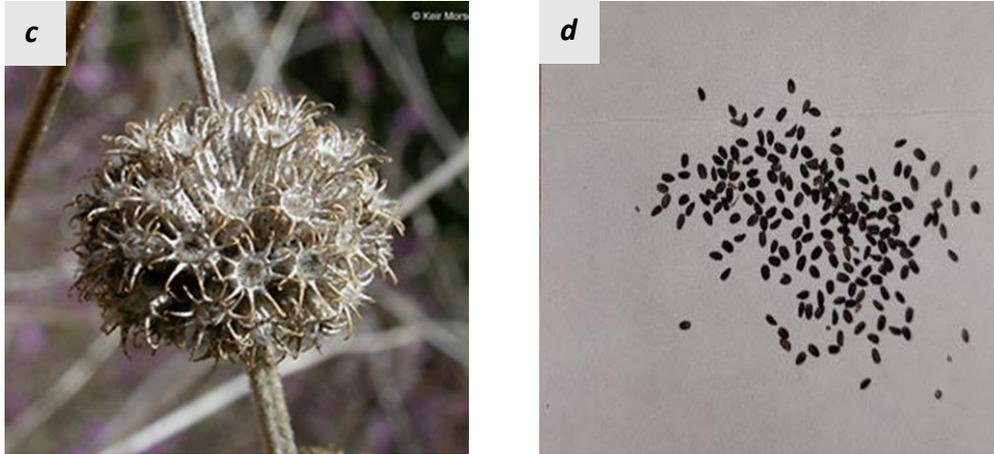


Figure 2 : Fruit en akène (c) et graines (d) de *Marrubium vulgare* L. Source : **Nedjimi et al. 2020**.

II-1-4- Ecologie et propagation

C'est une plante que l'on retrouve poussant assez bien sur un sol de texture légère, limoneux-sableux, relativement pauvre en matières organiques, moyennement à fortement riche en éléments minéraux et à pH légèrement alcalin ($7,5 < \text{pH} < 8,0$). C'est une espèce qui ne tolère pas les sols gorgés d'eau ainsi que la salinité, mais est très exigeante de la pleine lumière pour pousser (**Julve, 2021**).

Sa propagation se réalise par semis, par bouturage ou en divisant les racines, méthode d'ailleurs la plus utilisée. Elle fleurit généralement au début du printemps, facilement visitée par les abeilles pour son nectar (**Ahvazi et al. 2018**).

II-1-5- Composition chimique et usages thérapeutiques

On trouve comme composés chimiques chez le marrube blanc des di-terpènes de type *labdane*. Les représentants les plus importants sont la *marrubiine* (0,12 à 1%) et la *pré-marrubiine* (0,13 %). Il s'agit de composants amers, possédant des caractéristiques importantes dont un faible turnover, une stabilité élevée et un faible catabolisme. Ces caractéristiques procurent des propriétés anti-nociceptives, anti-oxydantes, anti-génotoxiques, cardio-protectrices, vaso-relaxantes, gastro-protectrices, antispasmodiques, immuno-modulatrices, anti-oedématogènes, analgésiques et antidiabétiques (**Popoola et al. 2013 ; Masoodi et al. 2015 ; Amri et al. 2017 ; Aćimovič et al. 2020**).

L'espèce est également source de composés phénoliques, de flavonoïdes, de composés azotés, de tanins et de mucilages, ainsi qu'une fraction minérale, en particulier des sels de potassium (Lodhi et al. 2017 ; Yabrir, 2019 ; Ačimovič et al. 2020 ; Hayat et al. 2020 ; Michel et al. 2020).

L'ensemble de ces composés sont bénéfiques pour la santé. Ainsi, une décoction avec des feuilles du marrube plus du miel est utilisée dans nos traditions pour traiter la toux, la bronchite, le rhume et les infections des voies respiratoires. On y traite également avec le marrube la jaunisse, les menstruations douloureuses, les ulcères, les plaies avec œdèmes, les mycoses et autres affections de la peau.

En phytothérapie moderne, on utilise le marrube comme expectorant, contre les ballonnements et les flatulences, ainsi que pour redonner le goût chez les personnes qui ont perdu temporairement l'appétit. Dans ce cas d'ailleurs, on a découvert que l'amertume du marrube stimule des récepteurs gustatifs de la langue, favorisant ainsi des sécrétions gastriques et biliaires, qui redonnent l'appétit.

Possédant une très bonne action antioxydante, le marrube blanc s'avère être utile dans les traitements du cancer, du diabète et les maladies du foie. La plante possède des effets anti-inflammatoires et hémostatiques, ainsi que des propriétés anti hypertensives, sédatives et antimicrobiennes (Yabrir, 2019 ; Ačimovič et al. 2020 ; Hayat et al. 2020 ; Michel et al. 2020).

II-2- Métaux lourds

Les métaux lourds englobent tous les éléments métalliques ayant une masse volumique supérieure à 5 g/cm³ (Nies, 1999). Certains comme le cuivre et le zinc, sont essentiels en petite quantité à la croissance des organismes vivants, mais deviennent toxiques lorsqu'ils sont excessivement assimilés. D'autres métaux comme le cadmium, le chrome et le plomb, sont non essentiels et sont considérés comme toxiques (Raskin et al. 1994 ; Adriano, 2001).

Le terme éléments traces métalliques (ETM) est préférentiellement usité pour désigner ces métaux lourds, qui regroupent le nickel (Ni), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le plomb (Pb), le mercure (Hg), le cadmium (Cd) et le chrome (Cr), auxquels on rajoute des métalloïdes tels que l'arsenic (As) et le sélénium (Se), qui ne sont que des éléments traces et pas des métaux (Duffus, 2002).

Les ETM peuvent provenir des voies naturelles par altérations de la roche mère du sous-sol formant le fond géochimique. Ils proviennent aussi des voies anthropiques suite aux pratiques agricoles, apports atmosphériques et les déchets de différentes origines (Adriano, 2001).

II-2-1- L'élément métallique chrome

Le nom chrome provient du grec *Khroma*, signifiant couleur. C'est le 21^{ème} élément le plus abondant de la croûte terrestre et le 6^{ème} métal de transition le plus abondant (Mohan and Pittman, 2006). Il a été découvert en 1797 par N. L. Vauquelin dans un minerai de plomb rouge de Sibérie. Il fut utilisé dans les procédés de coloration des textiles, le tannage des cuirs, comme réfractaire dans le revêtement des fours et en métallurgie (Chiffolleau, 1994).

| | |
|---|---|
| Chrome | |
| +6 ⋮ +3 +2 +1 -1 -2 -4 | 652,9 1,66 Cr [Ar] 3d ⁵ 4s ¹ 51,9961 ⑥ |
| 24 | 1 13 8 2 |

II-2-1-1- Propriétés du chrome

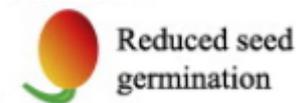
Le chrome est dur et d'une couleur gris acier-argenté. Sa particularité est de résister à la corrosion et/ou au ternissement. Il forme uniquement des liaisons de covalence. Il existe sous plusieurs valences allant du Cr(0) au Cr(VI). Le passage d'une valence à une autre est conditionnée par le potentiel redox et le pH du milieu. Deux formes se distinguent, le chrome trivalent Cr(III) et le chrome hexavalent Cr(VI) :

- Le Cr(VI) se retrouve sous la forme de monoxyde de chrome (CrO_4^{2-}), dichromate ($Cr_2O_7^{2-}$) et d'acide chromique (CrO_3). Considéré comme la forme la plus toxique en raison de son potentiel d'oxydation élevé, de sa forte solubilité et de son importante mobilité à travers les membranes des organismes vivants et dans l'environnement.
- Le Cr(III) est la forme la plus stable, présente en solution sous forme hydroxyde $Cr(OH)^{2+}$, $Cr(OH)_2^+$, $Cr(OH)_4^-$. Il peut former des complexes avec la matière organique, car possédant de nombreux groupements fonctionnels (Shanker et al. 2005 ; Singh et al. 2013 ; Shahid et al. 2017).

II-2-1-2- Phytotoxicité liée au chrome

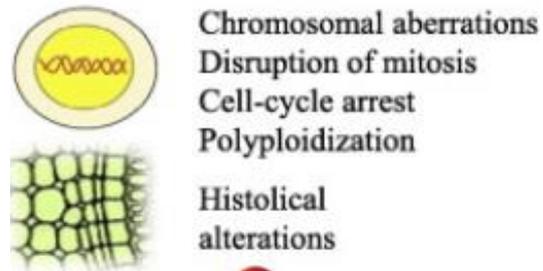
Le chrome est un inhibiteur de la germination lorsqu'il est présent en fortes concentrations. C'est ce qui a été rapporté chez plusieurs espèces dont *Echinochloa colona*, le haricot nain, la luzerne, le haricot mungo et la canne à sucre (Shanker et al. 2005). Cette inhibition de la germination se manifeste par une réduction de

l'activité des amylases α et β , qui sont nécessaires à l'hydrolyse de l'amidon. Aussi, il a été rapporté que l'activité des protéases augmente avec l'augmentation de la concentration du chrome, ce qui réduit également la germination des graines (Zeid, 2001 ; Shanker et al. 2005 ; Amin et al. 2019).



Lorsque la germination des graines est assurée, une réduction de la croissance des racines est observée à cause de la présence du chrome. C'est ce que rapporte **Shanker et al. (2005)** chez *Salix viminalis*, *Caesalpinia pulcherrima*, le haricot mungo, le riz et le sorgho. Ce n'est pas seulement les longueurs racinaires qui diminuent mais également leur biomasse sèche.

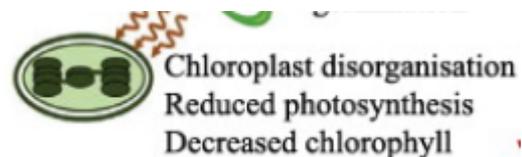
En parallèle, le diamètre des racines et des poils absorbants augmente et des variations proportionnelles des assises de tissus du cortex et de la stèle sont également observées. La réduction de la croissance des racines serait une conséquence de l'inhibition exercée par le chrome sur les divisions cellulaires, de l'allongement du cycle cellulaire et de l'élongation cellulaire (**Shanker et al. 2005**).



La hauteur de la partie aérienne est également affectée par la présence du chrome. C'est le cas chez *Curcuma sativa*, *Lactuca sativa*, *Panicum miliaceum* et *Sinapsis alba*. Cette réduction de hauteur est la conséquence de l'inhibition de la croissance des racines d'une part, puis de la diminution du transport de l'eau et des nutriments depuis les racines vers les parties supérieures de la plante d'autre part (**Samantaray et al. 1998 ; Shanker et al. 2005**).

Le nombre de feuilles, leur surface et leur biomasse sont touchés par la présence du chrome en excès. Ce constat a été fait chez *Albizia lebbek*, *Acacia holocerca*, *Leucaena leucocephala*, le riz et le haricot nain. Dans ces cas, le chrome induit des chloroses qui se transforment en nécroses des extrémités et des marges des feuilles (**Jain et al. 2000 ; Singh, 2001 ; Shanker et al. 2005**).

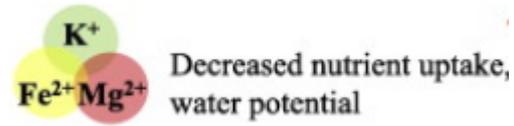
Les principaux processus physiologiques sont également affectés par la présence du chrome en excès. Le premier d'entre eux étant la photosynthèse suite à la désorganisation des chloroplastes, la perte des pigments chlorophylliens, l'inhibition du transport d'électrons, l'inactivation des enzymes du cycle de Calvin et la réduction de la fixation du CO₂ (**Shanker et al. 2005**).



Les relations hydriques sont altérées avec un constat de diminution du potentiel hydrique, une augmentation de la transpiration et une réduction de la résistance à la diffusion. En conséquence, les feuilles flétrissent et une réduction du diamètre des vaisseaux / trachéides est observée (**Shanker et al. 2005**).



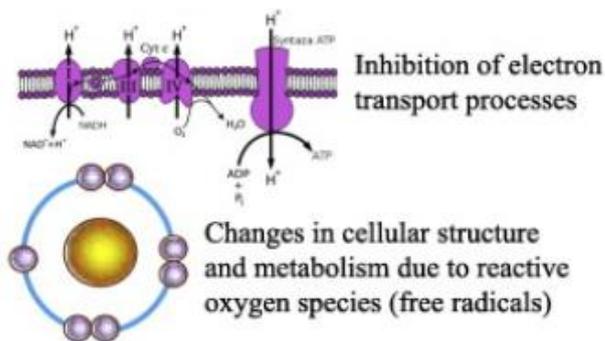
La perturbation du potentiel hydrique provoque des effets négatifs sur la nutrition minérale. L'assimilation des éléments minéraux essentiels est affectée par cet état de fait. Ce sont l'azote, le phosphore, le potassium, le fer, le magnésium, le manganèse, le molybdène, le zinc, le cuivre, le calcium et le bore qui ne sont plus disponibles pour les plantes et qui ne sont plus assimilés du seul fait de la présence du chrome en excès (**Shanker et al. 2005**).



Le chrome a aussi la faculté d'inhiber l'activité de plusieurs enzymes assimilatrices et d'induire au final l'apparition d'un stress oxydatif, fort préjudiciable fonctionnement des systèmes membranaires et au transport des électrons (**Shanker et al. 2005**).



L'ensemble des effets induits par le chrome sont susceptibles de réduire la production totale de matière sèche et le rendement final. C'est ce qui est rapporté chez notamment



plusieurs espèces cultivées où l'on observe une réduction de rendement jusqu'à 50%, une baisse du nombre de fleurs par plante, une réduction du poids des grains, une augmentation de la déformation des grains et une réduction du poids des gousses (**Shanker et al. 2005**).

II-2-1-3- Réponses apportées à la phytotoxicité liée au chrome

On sait que le chrome est principalement retenu au niveau des racines, donc faiblement transporté vers les parties aériennes. Il faut donc entrevoir d'assurer d'abord sa translocation vers les feuilles avant d'envisager son éventuelle phytoremédiation (**Shanker et al. 2005**).

Déjà au niveau racinaire, on peut envisager l'assainissement d'un sol contaminé au chrome techniquement par trois procédés différents (**Fig. 3**) :

- La rhizofiltration est un procédé qui s'appuie généralement sur des plantes exhibant des racines larges et denses. Au sein de ce système, le chrome précipite à la surface au moment où les racines absorbent suffisamment d'eau (**Fig. 3a**).
- La phytostabilisation est utilisée pour empêcher ou limiter la mobilité du chrome. Les végétaux utilisés peuvent stabiliser ces polluants au niveau racinaire par accumulation ou adsorption, ainsi que par précipitation. Le chrome étant transformé en un composé inerte afin de réduire sa nocivité (**Fig. 3b**).

- La phytoextraction consiste à exploiter la capacité des plantes à extraire le chrome et à le transporter jusqu'aux parties aériennes. Ces parties sont récoltées et traitées par incinération ou par hydrométallurgie (**Fig. 3c**).

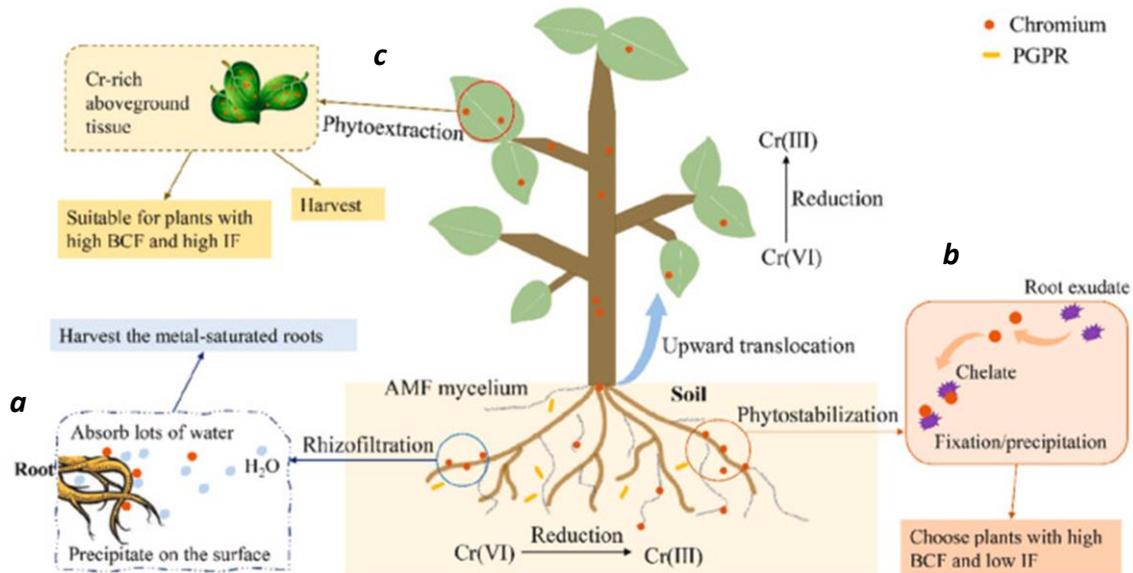


Figure 3 : Processus de phytoremédiation du chrome. *Source* : **Sinha et al. 2018** ; **Wu et al. 2018** *In* **Han et al. 2023**.

Dans cette dernière approche liée à la phytoextraction, il y a lieu de noter que les mycorhizes des champignons et les acides organiques (citrique et oxalique) jouent un rôle important en sols contaminés par du chrome, en améliorant déjà son absorption, puis sa translocation vers les parties aériennes (**Davies et al. 2001** ; **Shanker et al. 2005**).

Au niveau cellulaire, les mesures les plus courantes adoptées par les plantes vis-à-vis du chrome sont ainsi (**Fig. 4**) :

- Immobilisation du Cr au niveau des parois des cellules racinaires pour éviter sa translocation.
- Passage du Cr de la membrane plasmique au cytoplasme via différents types de transporteurs.
- Compartimentation vacuolaire entre autres grâce à des protéines du tonoplaste ou bien directement ou à travers des vésicules.
- Réduction cytoplasmique du Cr(VI) en Cr(III) par intervention des métallothionéines ou des peptides phytochélateurs.
- La production des ROS active le système de défense antioxydant et régule l'homéostasie cellulaire via des systèmes enzymatiques et/ou non-enzymatiques.

- Phytoextraction du Cr depuis les racines vers les parties aériennes via le xylème. C'est grâce à la transpiration qui génère une pression négative dans le xylème, qui permet le flux ascendant de l'eau et des minéraux (Han et al. 2023).

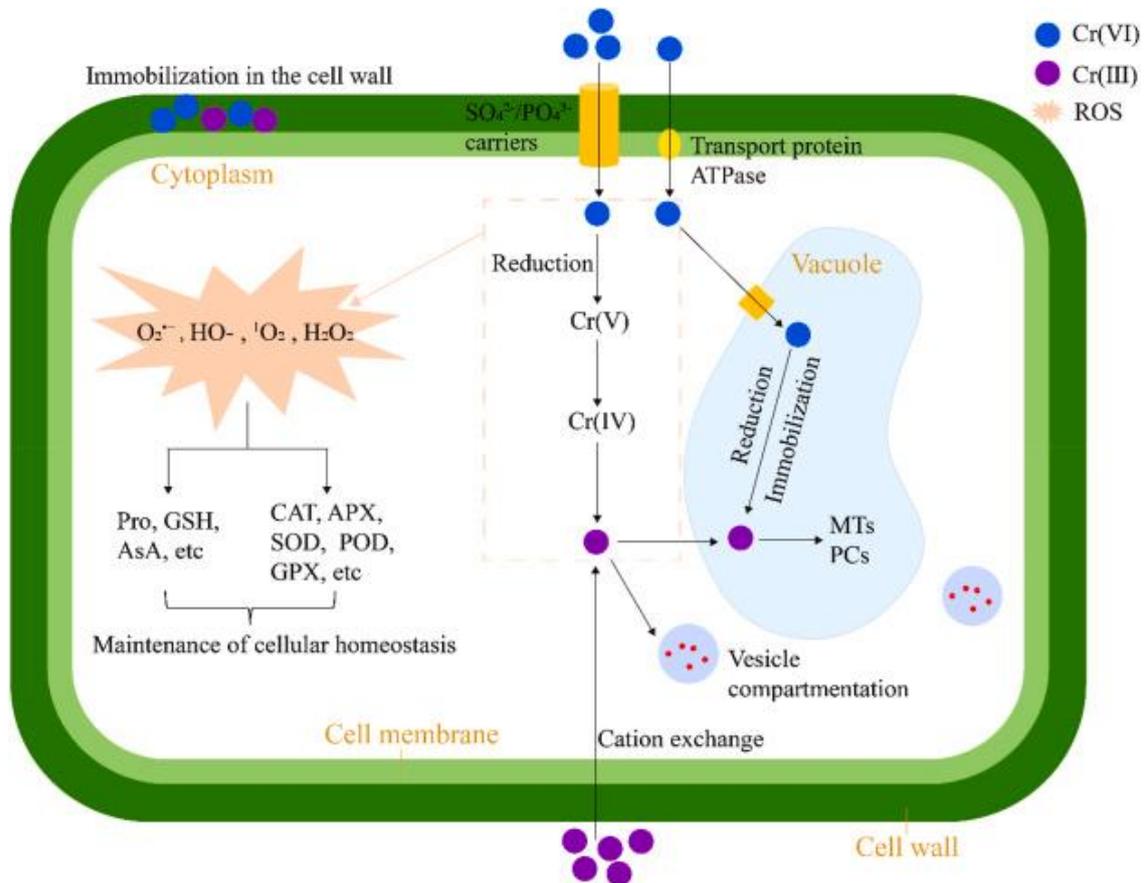


Figure 4 : Mécanismes d'absorption, de translocation et de stockage du chrome. La figure montre une diffusion passive du Cr(III), active du Cr(VI) à l'intérieur de la cellule et la formation d'un complexe stable au niveau vacuolaire. Pour résister aux ROS produits par la réduction du Cr(VI), la cellule initie un mécanisme de défense antioxydant et maintient l'homéostasie cellulaire. Source : Lopez-Bucio et al. 2022 In Han et al. 2023.

II-2-2- L'élément métallique cadmium

Cadmium pourrait dériver du mot gréco-latin *Kadmeia*. Il s'agit de l'ancienne appellation du carbonate de zinc extrait près de Thèbes en Béotie. Il fait partie du groupe 12 et de la période 5. A l'état pur ou de corps simple, il se présente sous forme de métal. Il est utilisé dans la fabrication des alliages ou pour le revêtement en fine couche de divers objets, ce qui leur confère la qualification de "cadmiés" (Das et al. 1997 ; Genchi et al. 2020).

| | | | |
|---------------------------------------|-------|-----------|----|
| Cadmium | | | |
| +2 | 867,8 | 48 | 2 |
| +1 | 1,69 | Cd | 18 |
| -2 | | | 18 |
| | | | 8 |
| | | | 2 |
| [Kr] 4d ¹⁰ 5s ² | | | |
| 112,414 (4) | | | |

II-2-2-1- Propriétés du cadmium

Le cadmium, en tant que corps simple métallique, présente une couleur blanche argentée brillante. Il est malléable, ductile et résiste à la corrosion atmosphérique. Cependant, une exposition à l'air libre lui fait perdre sa brillance et il ternit progressivement. Insoluble dans les bases, le cadmium l'est également dans l'eau. L'eau pure, même à ébullition, n'a aucun effet sur le cadmium. On lui trouve de nombreuses applications en galvanoplastie, en électrochimie, dans l'élaboration des colorants et dans le procédé de cadmiage pour protéger les métaux et les alliages de l'oxydation. C'est un élément chimique extrêmement toxique, dépasse le plomb et le mercure en termes de nocivité. Il compte parmi les plus dangereux pour l'environnement. Il accroît les risques de contamination de l'eau et de la faune (Das et al. 1997 ; Andresen and Küpper, 2013 ; Genchi et al. 2020).

II-2-2-2- Phytotoxicité liée au cadmium

Le cadmium peut uniquement retarder la germination en entravant la mobilisation des réserves, sucres solubles totaux et acides aminés. Les fortes concentrations en cadmium ont plutôt des effets inhibiteurs sur la germination, qu'on explique en partie par l'action inhibitrice exercée sur les enzymes chargées de la reprise de la vie et sur l'édification d'une nouvelle plante ; et/ou sur les activités hydrolytiques au cours de la germination des graines (Chugh and Sawhney, 1999 ; Bansal et al. 2001 ; De la Rosa et al. 2004) (Fig. 5).

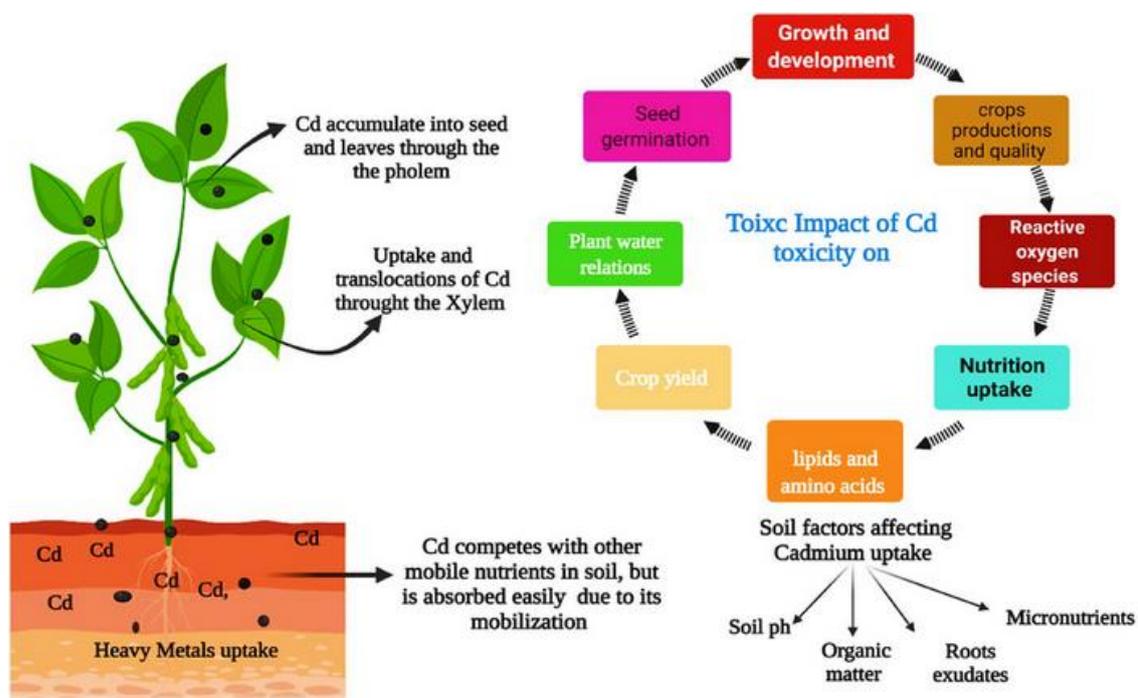


Figure 5 : Absorption, translocation, accumulation et effets toxiques du cadmium sur la croissance et le développement des plantes. Source : Alsafran et al. 2022.

La phytotoxicité induite par le cadmium est manifeste sur les racines. Elle provoque une réduction de leur croissance après inhibition des divisions cellulaires et de la synthèse de polysaccharides pariétaux. Les parties aériennes sont également affectées ainsi que la production de la biomasse. La réduction touchant les parties aériennes est accompagnée de changements anatomiques, structuraux et ultra structuraux importants au niveau des feuilles (**Baker and Walker, 1989 ; Punz and Sieghardt, 1993 ; Das et al. 1997 ; Baryla et al. 2001**) (Fig. 5).

La biomasse étant réduite par suite des effets du cadmium sur l'activité de la nitrate réductase, sur les niveaux en chlorophylles et en caroténoïdes totaux ainsi que sur l'activité photosynthétique (**Popova et al. 2012 ; Tran and Popova, 2013 ; Farooq et al. 2016**) (Fig. 5).

Le cadmium interfère avec la biodisponibilité du fer, du phosphore et de l'azote. Il s'agit d'éléments importants pour la photosynthèse et le déroulement du métabolisme. L'équilibre hydrique est également perturbé au niveau des racines via son absorption, au niveau du flux de l'eau via son transport par le xylème et au niveau des stomates via la transpiration (**Barceló et al. 1988 ; Marchiol et al. 1996**) (Fig. 5).

L'ensemble des déséquilibres induits par le cadmium provoquent au final chloroses et nécroses des feuilles, ainsi qu'une apparition de formes réactives de l'oxygène menant à un stress oxydant. Ces formes réactives sont potentiellement nuisibles aux systèmes membranaires et au fonctionnement des organites cellulaires (**Benavides et al. 2005 ; Cosio et al. 2005 ; Clemens, 2006 ; Haider et al. 2021**) (Fig. 5).

II-2-2-3- Réponses apportées à la phytotoxicité liée au cadmium

Bien que le Cd ne soit pas un élément essentiel ou bénéfique pour les plantes, on le retrouve en particulier au niveau des racines et atteint également les feuilles (**Assunção et al. 2003**). Au niveau racinaire, les stratégies développées par les plantes contre le cadmium commencent d'abord par son immobilisation au niveau des parois cellulaires (**Wagner, 1993 ; Marchiol et al. 1996 ; Sanità di Toppi and Gabrielli, 1999**).

Par la suite, le cadmium ne doit pas atteindre le cytoplasme. Il est empêché grâce à l'intervention des canaux et des transporteurs membranaires. Dans cette optique, il a été montré durant les premières phases de la germination des graines du radis par exemple, que le cadmium emprunte des canaux à calcium membranaires pour atteindre le cytoplasme (**Rivetta et al. 1997**).

Des protéines particulières dénommées phytochélatines, interviennent pour fixer le cadmium et annuler ainsi son potentiel toxique. Ces protéines sont essentielles pour la tolérance du cadmium (**Benavides et al. 2005**).

MATERIEL & METHODES

III- Matériel & Méthodes

III-1- Matériel

L'étude a été réalisée au niveau du laboratoire de Biotechnologie. Elle vise à expérimenter les effets du chrome $[K_2Cr_2O_7]$ et du cadmium $[Cd(NO_3)_2]$ sur la germination des graines de *Marrubium vulgare* L., ainsi que la teneur en eau, le contenu en sucres solubles et en protéines des plantules qui en sont issues.

III-1-1- Matériel végétal

III-1-1-1- Origine des graines

La récolte des fruits de *Marrubium vulgare* L. s'est déroulée en juillet 2022 depuis des plantes poussant dans la région de Ben Badis à Sidi Bel Abbes (région du nord-ouest de l'Algérie ; aux coordonnées $34^{\circ}57'6''$ N ; $0^{\circ}54'50''$ O ; et une altitude de 708 m (**Fig. 6**).

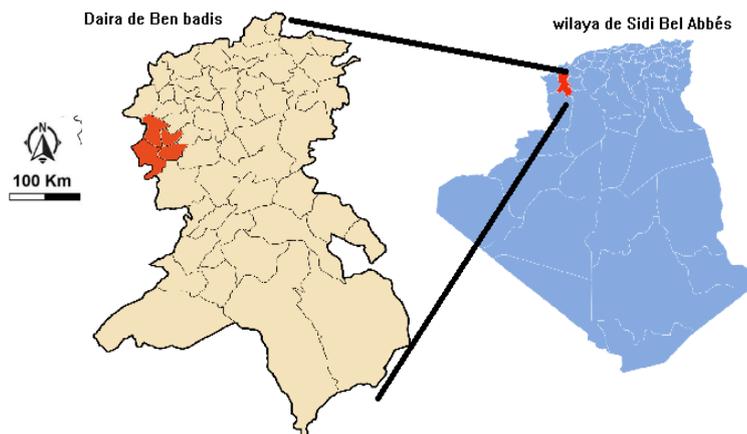


Figure 6 : Localisation géographique de la zone d'échantillonnage des akènes de *Marrubium vulgare* L.

III-1-1-2- Traitement des graines

Les graines sont récupérées de leurs akènes et stérilisées dans une solution d'eau de javel à 5 % (v/v) pendant 1 à 2 minutes. Les graines sont ensuite abondamment rincées à l'eau distillée, récupérées et étalées sur du papier absorbant avant de les utiliser pour la germination (**Fig. 7**).

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

Les graines de *Marrubium vulgare* L. sont mises à germer dans des boîtes de Petri stériles (\varnothing 90 mm x H 15 mm) à raison de 25 graines par boîte. Ces boîtes ont été au préalable tapissées de papier absorbant. Elles ont été réparties en trois lots différents :



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

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

Un troisième lot **traité au cadmium** préparé de la même façon que ce qui vient d'être décrit précédemment.

Chaque boîte est étiquetée, recouverte de son couvercle et scellée par du parafilm pour prévenir toute évaporation d'eau (lot témoin) ou de la solution du traitement (lots traités). Pour permettre la germination en conditions contrôlées, l'ensemble des boîtes sont entreposées dans une étuve réglée à 23°C et à l'abri de la lumière.

Au quotidien, durant une douzaine de jours, les graines qui germent sont repérées et comptées. Le critère adopté est celui de la percée de la radicule à longueur minimale de 2 mm (Evenari, 1957).

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

Au bout du 12^{ème} jour de suivi de la germination, les plantules qui se sont développées ont été récupérées, débarrassées de leurs téguments et réservées pour déterminer leur teneur en eau, leur contenu en sucres solubles et en protéines (Fig. 7).



Figure 7 : Graines de *Marrubium vulgare* L. avant la mise à germination (photo de gauche) et leur développement en plantules une douzaine de jours après (photo de droite).

III-1-2- Préparation des solutions métalliques

III-1-2-1- Solution de dichromate de potassium

Le dichromate de potassium est un solide ionique de couleur rouge. Dans l'eau, il se dissocie en ions dichromate et en ions potassium. Il a été utilisé en solution dans de l'eau pour imposer aux graines de *M. vulgare* L., un stress métallique sous sa forme $K_2Cr_2O_7$ (*Biochem ChemoPharma*). Les concentrations testées sont de [25, 50, 75 et 100 ppm] (**Fig. 8**).



Formule moléculaire brute : $K_2Cr_2O_7$

Nom IUPAC : Potassium dichromate (VI)

Masse molaire : 294,18 g/mol

Masse volumique : 2,68 g/cm³

Point d'ébullition : 500,0 °C

Etat physique : solide en cristaux rouge

Figure 8 : Présentation des cristaux de dichromate de potassium et ses quelques caractéristiques physico-chimiques. Source : <http://reptox.cnesst.gouv.qc.ca>

III-1-2-2- Solution de nitrate de cadmium

Le nitrate de cadmium est un composé inorganique, cristallin et incolore. Il a été utilisé en solution dans de l'eau pour imposer aux graines de *M. vulgare* L., un stress métallique sous sa forme $Cd(NO_3)_2 \cdot 8/3 H_2O$ (*Panreak*). Les concentrations utilisées sont de [25, 50, 75 et 100 ppm] (**Fig. 9**).



Formule moléculaire brute : CdN_2O_6

Nom : Nitrate de cadmium

Masse molaire : 236,43 g/mol

Masse volumique : 3,6 g/cm³

Point d'ébullition : 131,9 °C

Etat physique : solide en cristaux blanc

Figure 9 : Présentation des cristaux de nitrate de cadmium tétrahydraté et ses quelques caractéristiques physico-chimiques. Source : <http://reptox.cnesst.gouv.qc.ca>.

III-2- Méthodes

III-2-1- Méthodes appliquées à la germination

III-2-1-1- Pourcentages cumulés 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 and Gunn, 1987**) :

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

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

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

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

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

III-2-2- 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%.

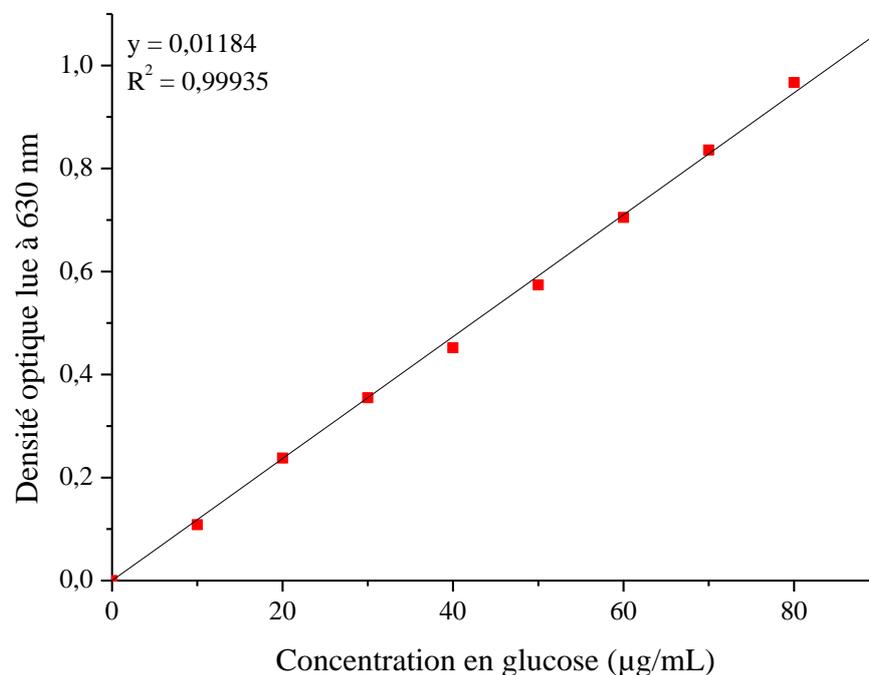


Figure 10 : Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de glucose à 200 $\mu\text{g/mL}$ (densité optique lue à 630 nm).

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. 10**). 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. 11**). 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.

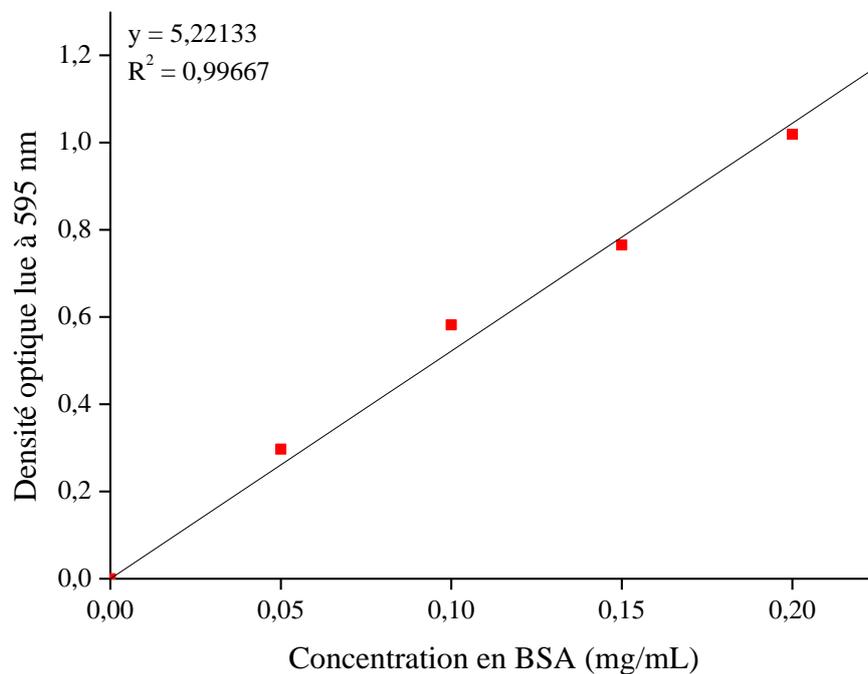


Figure 11 : Courbe étalon réalisée à l'aide d'une solution mère de BSA (sérum albumine bovine) à 1 mg/mL (densité optique lue à 595 nm).

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 $K_2Cr_2O_7$

Les graines témoins de *M. vulgare* L. déclenchent leur germination à partir du 3^{ème} jour avec un très faible % cumulé moyen de germination ($3,5 \pm 3,3\%$), avant de progresser plus ou moins rapidement au cours des jours suivants pour atteindre un maximum de graines qui germent au 8^{ème} jour ($56,0 \pm 4,2\%$). Ce % cumulé moyen atteint n'évolue plus substantiellement au-delà de ce 8^{ème} jour (**Fig. 12**).

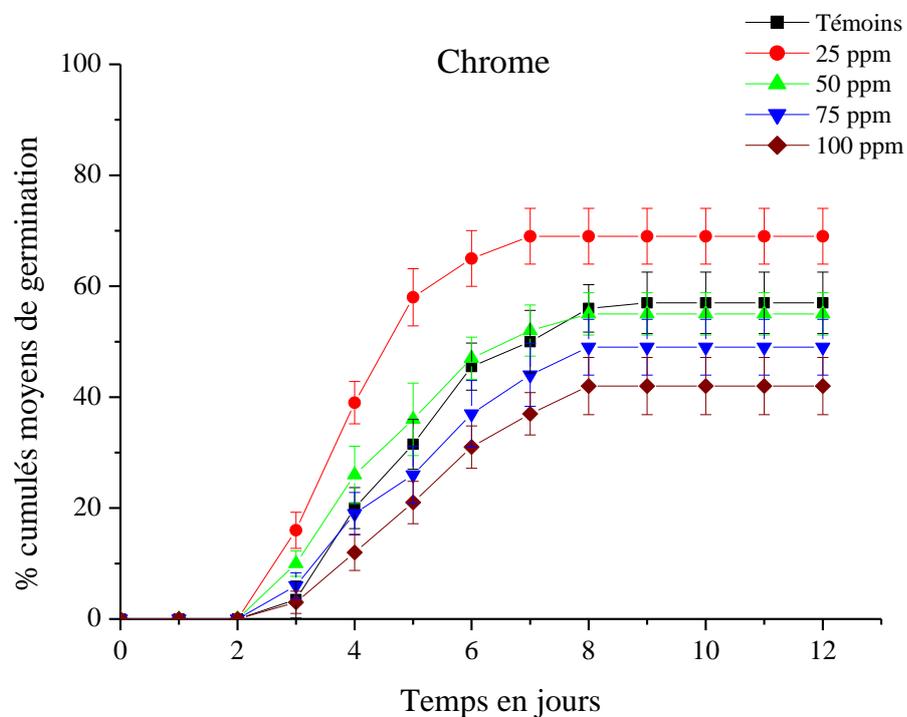


Figure 12 : Evolution des % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations en $K_2Cr_2O_7$ [25, 50, 75 et 100 ppm] en fonction du temps.

Ce sont les graines traitées avec la concentration de [25 ppm] qui germent mieux que les graines témoins. En effet, ces graines déclenchent certes leur germination à partir du 3^{ème} jour, mais avec un % cumulé moyen de germination assez important ($16 \pm 3,2\%$). La germination de ce lot se poursuit les jours suivants avec à chaque fois des % cumulés moyens supérieurs à ceux des témoins. Le 7^{ème} jour coïncide avec un maximum de graines qui germent ($69 \pm 5,0\%$), qui n'évolue plus le reste du temps de suivi de la germination (**Fig. 12**).

L'évolution des % cumulés moyens de germination des graines traitées avec la concentration de [50 ppm] ne diffèrent que peu de ceux enregistrés chez les témoins. Par contre, une application en chrome de [75 ppm] montre une évolution des % cumulés moyens de germination qui diffère sensiblement de ceux des témoins, enregistrés uniquement à partir du 6^{ème} jour. En effet, le % cumulé moyen de germination des graines traitées par cette concentration de [75 ppm] est de 18,6% plus faible que celui des témoins au 6^{ème} jour ; de 12% plus faible au 7^{ème} jour ; de 12,5% plus faible au 8^{ème} jour et de 14% plus faible au 9^{ème} jour (**Fig. 12**).

Le traitement le plus fort de [100 ppm] ne retarde nullement la germination, où un % cumulé moyen de $3 \pm 2,0\%$ de graines germent au 3^{ème} jour. Cependant, les germinations suivantes sont beaucoup moindres que ce qui est enregistré chez les témoins pour chacun des jours suivants. D'ailleurs, le % cumulé moyen de germination obtenu au final n'est que de $42 \pm 5,1\%$. Autrement, un % cumulé moyen de germination de 26,3% plus faible que celui des témoins (**Fig. 12**).

IV-1-1-2- % cumulés moyens de germination des graines traitées au Cd(NO₃)₂

Avec le traitement au cadmium, la germination est déclenchée au 3^{ème} jour pour l'ensemble des concentrations testées. Cette observation est également valable pour la germination des graines témoins (**Fig. 13**).

Les % cumulés moyens de germination enregistrés au 3^{ème} jour évoluent progressivement jusqu'à la limite du 8^{ème} jour, puis n'évoluent plus au cours du temps. Seulement, cette évolution diffère au sein des traités avec le cadmium d'une part et avec les témoins d'autre part (**Fig. 13**).

En effet, les traitements de [25 et 50 ppm] appliqués avec le cadmium, évoluent non seulement de la même manière, mais avec en prime des % cumulés moyens de germination, de loin meilleurs que ceux enregistrés chez les témoins. Ces différences qui sont assez importantes du 3^{ème} au 8^{ème} jour, s'estompent un peu plus lorsque les dénombrements passent au-delà du 8^{ème} jour, par le fait que les graines témoins rattrapent avec le temps un peu de leur retard (**Fig. 13**).

Lorsqu'on compare les % cumulés moyens de germination des graines traitées par une concentration de [75 ppm] au cadmium avec les graines témoins, on note une similitude pour presque tous les temps considérés, exception pour ceux qui s'étalent entre le 5^{ème} et le 7^{ème} jour. En effet, les % cumulés moyens de germination des traités avec la concentration de [75 ppm] sont meilleurs, respectivement de 30%, 17,2% et 15,2% que ceux des témoins enregistrés pour les mêmes temps, c'est-à-dire au 5^{ème}, 6^{ème} et 7^{ème} jour des dénombrements (**Fig. 13**).

Le traitement appliqué au cadmium avec la concentration la plus forte de [100 ppm] est sensiblement la même que celle enregistrée pour les graines témoins par rapport à l'évolution des % cumulés moyens de germination (**Fig. 13**).

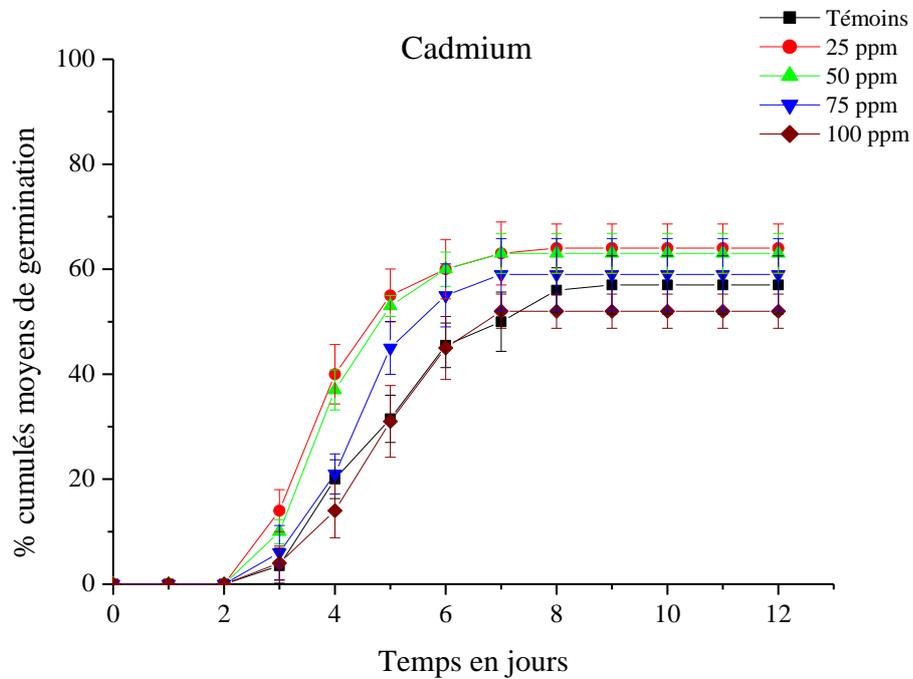


Figure 13 : Evolution des % cumulés moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations en $Cd(NO_3)_2$ [25, 50, 75 et 100 ppm] en fonction du temps.

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

La figure 14 reprend les % cumulés moyens de germination obtenus une douzaine de jours après la 1^{ère} mise à germination des graines témoins et traitées par les différentes concentrations en chrome et en cadmium (**Fig. 14**).

La capacité germinative atteinte au final par les graines de *M. vulgare* L. témoins est de $57,0 \pm 5,5\%$. Celle des graines traitées par la concentration de [25 ppm] en chrome est meilleure que celle des graines témoins d'environ 17,4%. L'élévation du traitement au chrome à une concentration de [50 ppm], n'améliore pas du tout cette capacité germinative, puisque les % cumulés moyens obtenus au final sont identiques à ceux des témoins ($55,0 \pm 3,8\%$ vs $57,0 \pm 5,5\%$). En revanche, les concentrations les plus élevées en chrome [75 et 100 ppm], ne font que diminuer cette capacité germinative lorsqu'on les compare aux témoins. En effet, les diminutions enregistrées sont respectivement de 14,0% et de 26,3% par rapport à la germination des graines témoins (**Fig. 14**).

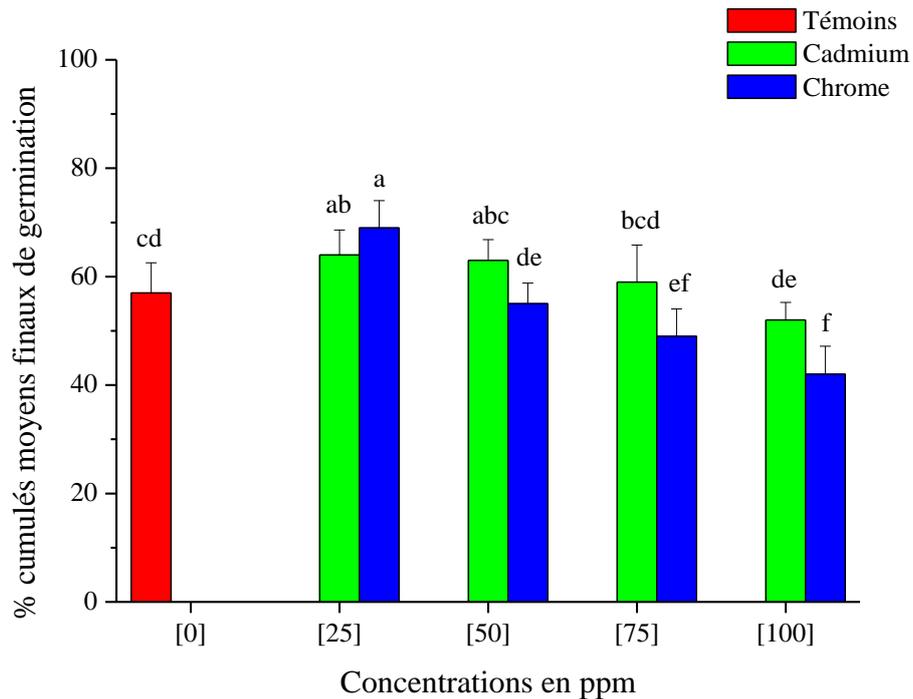


Figure 14 : Effets des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ et en $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ sur les % cumulés moyens finaux de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0]. Ces données sont enregistrées au 12^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

Avec le cadmium utilisé à une concentration de [25 ppm], le pouvoir de germination des graines de *M. vulgare* L. est également meilleur que celui présenté par les graines témoins, de l'ordre de 10,9%. C'est presque autant avec ce qui est obtenu avec la concentration en cadmium de [50 ppm], malgré que les différences avec ce qui a été obtenu avec les témoins ne sont pas significativement différentes (**Fig. 14**).

Si la concentration de [75 ppm] en cadmium n'améliore pas la capacité germinative obtenue au final ; elle ne la fait pas diminuer pour autant, puisque les % cumulés moyens obtenus au final sont identiques lorsqu'on fait la comparaison avec la germination des graines témoins ($59,0 \pm 6,8\%$ vs $57,0 \pm 5,5\%$) (**Fig. 14**).

La concentration la plus forte en cadmium de [100 ppm] fait diminuer le nombre moyen de graines qui germent au final. Cette diminution de l'ordre de 8,7% par rapport aux graines témoins n'est pas aussi importante, puisqu'elle reste significativement proche de la capacité germinative atteinte au final par les graines témoins (**Fig. 14**).

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

La germination des graines témoins de *M. vulgare* L. nécessite un temps moyen de germination de $5,46 \pm 0,28$ jours. Ce temps diminue jusqu'à $4,42 \pm 0,08$ jours pour le traitement en chrome le plus faible de [25 ppm], puis augmente à hauteur de $4,88 \pm 0,28$ jours pour le traitement en chrome de [50 ppm], avant de finir par retrouver celui des témoins pour les traitements en chrome les plus élevés de [75 et 100 ppm] (**Fig. 15**).

A quelques exceptions près, c'est ce que l'on observe dans le cas du traitement induit par le cadmium, où l'on note des temps moyens de germination plus faibles, de 18 à 20% de moins que celui des témoins pour des applications en cadmium les plus faibles de [25 et 50 ppm]. En revanche, l'application d'un traitement plus fort fait augmenter ce temps moyen de germination. L'augmentation reste en dessous du temps moyen de germination enregistré au sein des témoins pour une application en cadmium de [75 ppm], puis culmine à hauteur de celui des graines témoins pour une application en cadmium de [100 ppm] (**Fig. 15**).

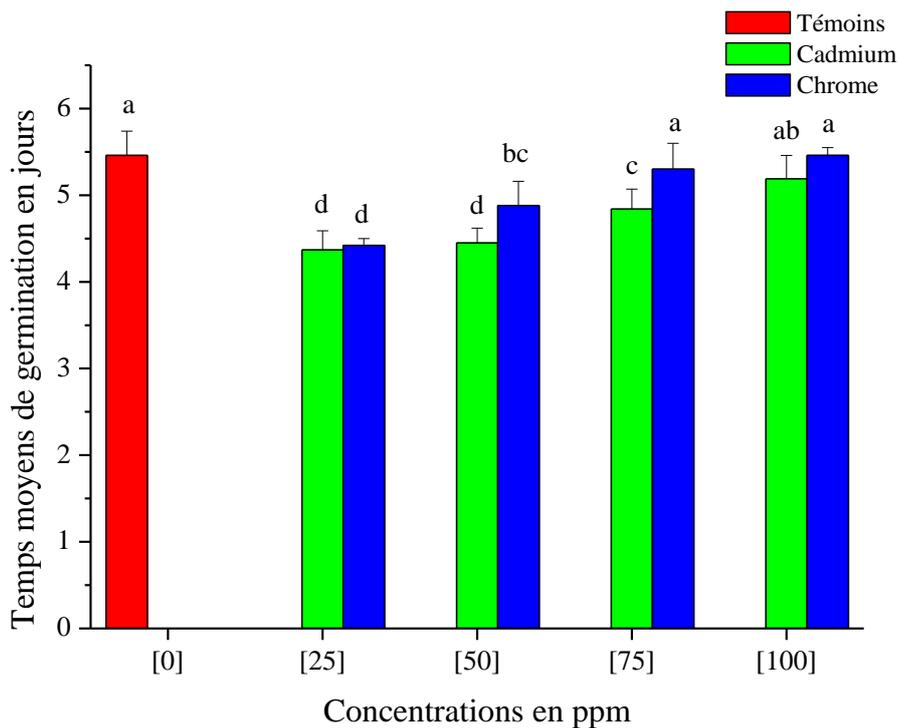


Figure 15 : Effets des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ et en $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ sur les temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. comparativement aux graines témoins [0]. Ces données sont enregistrées au 12^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

IV-1-1-5- Effets sur la germination des traitements au chrome vs cadmium

La cinétique de la germination des graines de *M. vulgare* L. a été suivie sur 12 jours. L’allure générale des courbes est sigmoïde, assez rapide du troisième au septième jour pour ce qui est du chrome et se prolonge jusqu’au huitième jour pour ce qui est du cadmium. Ainsi, le plateau étant atteint rendant compte du maximum de graines qui germe pour chacun des lots et pour chacune des concentrations testées (**Fig. 12 et 13**).

Pour déclencher la germination des graines de marrube, dans les conditions de notre travail, un temps de latence a été nécessaire ; il est de 3 jours pour les 2 lots des traités ainsi que d’ailleurs pour les graines témoins.

Le tableau 1 ci-dessous regroupe les % cumulés moyens de germination des graines de marrube obtenus au cinquième jour de suivi de la germination. Ce temps a été choisi parce qu’il correspond au temps intermédiaire enregistré au cours de la progression des germinations pour les 2 lots traités. Ce temps se situe entre le 3^{ème} jour correspondant au déclenchement de la germination et le 7^{ème} jour correspondant au temps où l’on obtient le maximum de graines qui germe avant d’amorcer le plateau.

A l’analyse de ces % cumulés moyens de germination, on constate que dans le cas du chrome, seule la concentration de [25 ppm] qui présente un effet améliorant et assez rapide sur la germination des graines de marrube. Le traitement au cadmium exerce de tels effets avec un large éventail de concentrations [25, 50 et 75 ppm] (**Tab. 1**).

Tableau 1 : Pourcentages cumulés moyens enregistrés au 5^{ème} jour du suivi de la germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en chrome et en cadmium.

| % cumulés moyens de germination enregistrés au 5 ^{ème} jour | | | | | |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Témoins | [25 ppm] | [50 ppm] | [75 ppm] | [100 ppm] |
| <i>K₂Cr₂O₇</i> | 31,5 ± 4,50 | 58,0 ± 5,16 | 36,0 ± 6,53 | 26,0 ± 5,16 | 21,0 ± 3,82 |
| <i>Cd(NO₃)₂</i> | | 55,0 ± 5,03 | 53,0 ± 2,00 | 45,0 ± 5,03 | 31,0 ± 6,83 |
| <i>Rapport</i> | 1 | 1,05 | 0,67 | 0,57 | 0,67 |

La capacité germinative atteinte au final par les graines de *M. vulgare* L. a été nettement améliorée par le traitement au chrome le plus faible de [25 ppm] par comparaison à la capacité germinative exhibée au final par les graines témoins. Le traitement au cadmium exerce son effet améliorant sur la capacité germinative des graines avec au moins deux des concentrations testées, à savoir [25 et 50 ppm], qui donnent d’ailleurs des % cumulés moyens finaux identiques (**Tab. 2**).

Aussi, il y a lieu de noter qu’au-delà de l’effet améliorant exercé sur la germination des graines de marrube par le chrome à la faible concentration, les concentrations les plus élevées exercent un effet entravant sur cette capacité germinative. Cet effet commence avec la concentration de [75 ppm] et s’amplifie avec la concentration de [100 ppm]. Ce n’est pas le cas du traitement au cadmium, dont l’effet entravant sur la germination commence pour la concentration la plus forte de [100 ppm] (**Tab. 2**).

Tableau 2 : 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 chrome et en cadmium.

| <i>% cumulés moyens finaux de germination enregistrés au 12^{ème} jour</i> | | | | | |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Témoins | [25 ppm] | [50 ppm] | [75 ppm] | [100 ppm] |
| <i>K₂Cr₂O₇</i> | 57,0 ± 5,55 | 69,0 ± 5,03 | 55,0 ± 3,82 | 49,0 ± 5,03 | 42,0 ± 5,16 |
| <i>Cd(NO₃)₂</i> | | 64,0 ± 4,61 | 63,0 ± 3,82 | 59,0 ± 6,83 | 52,0 ± 3,26 |
| <i>Rapport</i> | 1 | 1,07 | 0,87 | 0,83 | 0,80 |

Les temps moyens de germination des graines traitées de marrube sont plus courts que le temps moyen de germination exhibé par les graines témoins. L’effet améliorant exercé sur la germination des graines par le chrome à la concentration de [25 ppm], s’est traduit par un temps moyen de germination plus rapide que celui exhibé par les témoins. C’est le même cas pour le traitement au cadmium pour la concentration la plus faible de [25 ppm]. Seulement, cet état de fait observé se prolonge dans le cas du traitement au cadmium lorsqu’on porte les concentrations appliquées à [50 et 75 ppm]. Ce qui n’a pas été observé dans le cas du traitement au chrome aux mêmes concentrations indiquées, en témoigne le rapport Cr/Cd qui passe à 1,09 (**Tab. 3**).

Tableau 3 : Temps moyens de germination des graines de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en chrome et en cadmium.

| <i>Temps moyens de germination (en jours)</i> | | | | | |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Témoins | [25 ppm] | [50 ppm] | [75 ppm] | [100 ppm] |
| <i>K₂Cr₂O₇</i> | 5,46 ± 0,28 | 4,42 ± 0,08 | 4,88 ± 0,28 | 5,30 ± 0,30 | 5,46 ± 0,09 |
| <i>Cd(NO₃)₂</i> | | 4,37 ± 0,22 | 4,45 ± 0,17 | 4,84 ± 0,23 | 5,19 ± 0,27 |
| <i>Rapport</i> | 1 | 1,01 | 1,09 | 1,09 | 1,05 |

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

Après 12 jours, les plantules de *M. vulgare* L. qui se sont développées dans les différents milieux de germination ont été récupérées et leur teneur en eau a été calculée (**Fig. 16**).

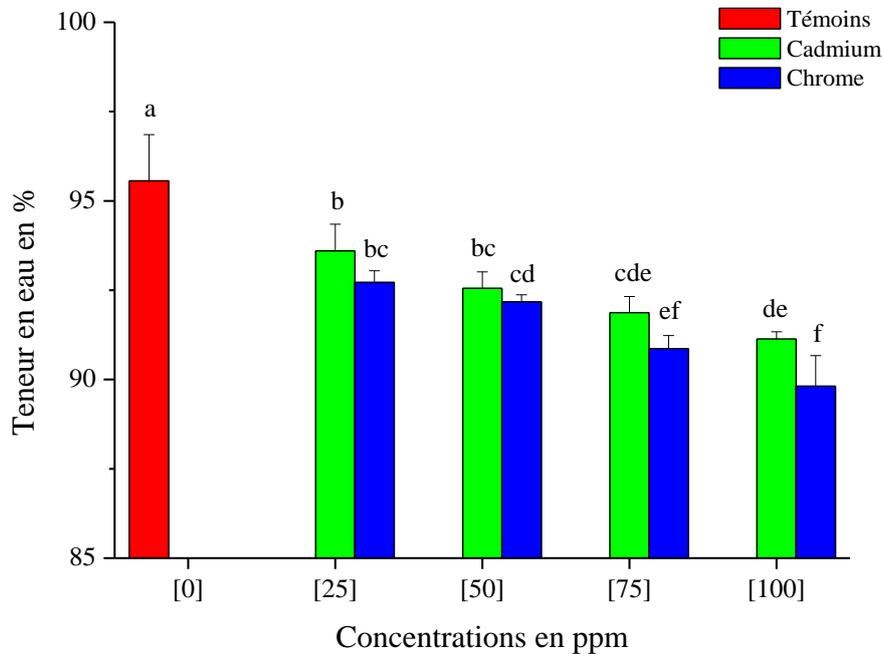


Figure 16 : Evolution des teneurs en eau moyennes des plantules de *Marrubium vulgare* L. en fonction des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ et en $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ appliquées au milieu de germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

La teneur en eau moyenne des plantules témoins est de $95,56 \pm 1,3\%$. Celle des plantules traitées avec les différentes concentrations en chrome diminue par deux fois par rapport à la teneur en eau moyenne exhibée par les plantules témoins. La première diminution est enregistrée pour les concentrations les plus faibles de [25 et 50 ppm]. La seconde diminution est observée pour les concentrations les plus fortes de [75 et 100 ppm]. Les diminutions enregistrées la première fois sont de l'ordre de 2,97 et 3,54% respectivement pour les concentrations de [25 et 50 ppm] ; alors que les diminutions enregistrées la seconde fois sont plus grandes de l'ordre de 4,91 et 6,01% respectivement pour les concentrations de [75 et 100 ppm] (**Fig. 16**).

Lorsqu'on considère le cas du cadmium, la teneur en eau moyenne enregistrée diminue également pour l'ensemble des concentrations testées lorsqu'on les compare par rapport à la teneur en eau moyenne des plantules témoins. Ainsi, aux concentrations les plus faibles de

[25 et 50 ppm], les diminutions enregistrées sont respectivement de 2,05 et 3,14% comparativement aux témoins ; alors qu'aux concentrations les plus fortes de [75 et 100 ppm], les diminutions enregistrées sont respectivement de 3,85 et 4,63% (**Fig. 16**).

Lorsqu'on considère les teneurs moyennes en eau enregistrées entre les deux traitements, on constate que les effets imposés par le chrome sur la teneur en eau sont identiques à ceux imposés par le cadmium aux mêmes concentrations, étant donné que le rapport Cr/Cd est de 0,99 pour les trois premières concentrations de [25, 50 et 75 ppm]. Une légère différence est enregistrée pour la concentration la plus forte de [100 ppm], où l'on note une teneur en eau plus faible lorsque le traitement est du chrome par rapport au cadmium (**Tab. 4**).

Tableau 4 : Teneurs en eau moyennes (en %) des plantules de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en chrome et en cadmium.

| <i>Teneur en eau moyenne des plantules (en %)</i> | | | | | |
|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | Témoins | [25 ppm] | [50 ppm] | [75 ppm] | [100 ppm] |
| $K_2Cr_2O_7$ | 95,56 ± 1,29 | 92,71 ± 0,32 | 92,17 ± 0,19 | 90,86 ± 0,36 | 89,81 ± 0,85 |
| $Cd(NO_3)_2$ | | 93,60 ± 0,75 | 92,55 ± 0,46 | 91,87 ± 0,45 | 91,13 ± 0,20 |
| <i>Rapport</i> | 1 | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,98 |

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

Le dosage des sucres solubles des plantules de *M. vulgare* L. s'est déroulé le 12^{ème} jour après la 1^{ère} mise à germination des graines. Le contenu moyen en sucres solubles des plantules témoins est de 8,98 ± 1,03 mg/g PF (**Fig. 17**).

Ce contenu moyen en sucres solubles enregistré chez les témoins est significativement identique à celui des traités par le chrome à la concentration la plus faible de [25 ppm] et à la concentration la plus forte de [100 ppm]. Entre temps, le contenu en sucres solubles des traités au chrome avec les deux concentrations intermédiaires, [50 et 75 ppm], se trouve plus élevé que celui des plantules témoins, respectivement de 14,17 et 20,05% (**Fig. 17**).

Dans le cas où le traitement est du cadmium, la concentration la plus faible de [25 ppm] n'augmente pas significativement le contenu en sucres solubles des plantules qui en sont issues comparativement aux plantules témoins. En revanche, les trois autres concentrations ne font qu'augmenter ce contenu à chaque fois que l'on augmente la concentration de ce stress métallique. Ces augmentations sont de 14,80 % pour la concentration de [50 ppm] ; de 29,01 % pour la concentration de [75 ppm] et de 41,52 % pour la concentration de [100 ppm] (**Fig. 17**).

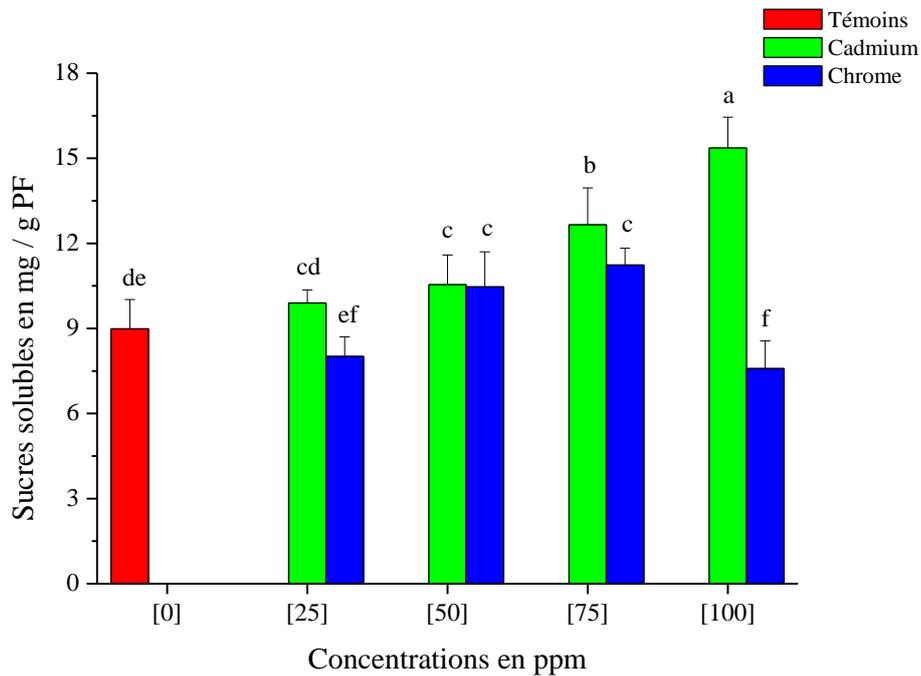


Figure 17 : Evolution des quantités moyennes en sucres solubles des plantules de *Marrubium vulgare* L. en fonction des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ et en $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ appliquées au milieu de germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

En comparant entre le contenu en sucres solubles des deux traitements appliqués au préalable aux graines, on trouve que le rapport n'est de 1 que pour la concentration de [50 ppm]. Toutes les autres concentrations montrent qu'il y a plus de sucres solubles chez les plantules issues du traitement au cadmium que chez les plantules issues du traitement au chrome, plus particulièrement pour la concentration la plus forte de [100 ppm] (**Tab. 5**).

Tableau 5 : Contenu en sucres solubles (en mg/g de poids frais) des plantules de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en chrome et en cadmium.

| Contenu moyen en sucres solubles des plantules (en mg/g PF) | | | | | |
|---|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| | Témoins | [25 ppm] | [50 ppm] | [75 ppm] | [100 ppm] |
| $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ | 8,98 ± 1,03 | 8,01 ± 0,69 | 10,46 ± 1,23 | 11,23 ± 0,59 | 7,58 ± 0,97 |
| $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ | | 9,89 ± 0,46 | 10,54 ± 1,04 | 12,65 ± 1,30 | 15,36 ± 1,08 |
| Rapport | 1 | 0,80 | 0,99 | 0,88 | 0,49 |

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

Le contenu en protéines des plantules de *M. vulgare* L. a été déterminé à l'issue des 12 jours du déroulement de la germination. Il est de $2,90 \pm 0,26$ mg/g PF chez les plantules témoins dont les graines n'ont pas été traitées par aucun élément métallique (**Fig. 18**).

Le traitement au chrome appliqué au préalable aux graines a fait augmenter considérablement les protéines des plantules qui en sont issues par comparaison aux témoins. La 1^{ère} augmentation de près de 40% est enregistrée simultanément pour les concentrations les plus faibles de [25 et 50 ppm]. La seconde augmentation de près de 55% est pour la concentration de [75 ppm] alors que la concentration la plus forte de [100 ppm] fait augmenter une troisième fois le contenu protéinique cette fois-ci de près de 61% (**Fig. 18**).

Le traitement des graines au cadmium n'augmente pas autant le contenu protéinique des plantules qui en sont issues par comparaison aux plantules témoins. Ainsi, ce contenu n'est pas modifié pour les concentrations de [25 et 50 ppm]. Il augmente en revanche de près de 34% pour une application de [75 ppm] et de près de 38% pour une application de [100 ppm] (**Fig. 18**).

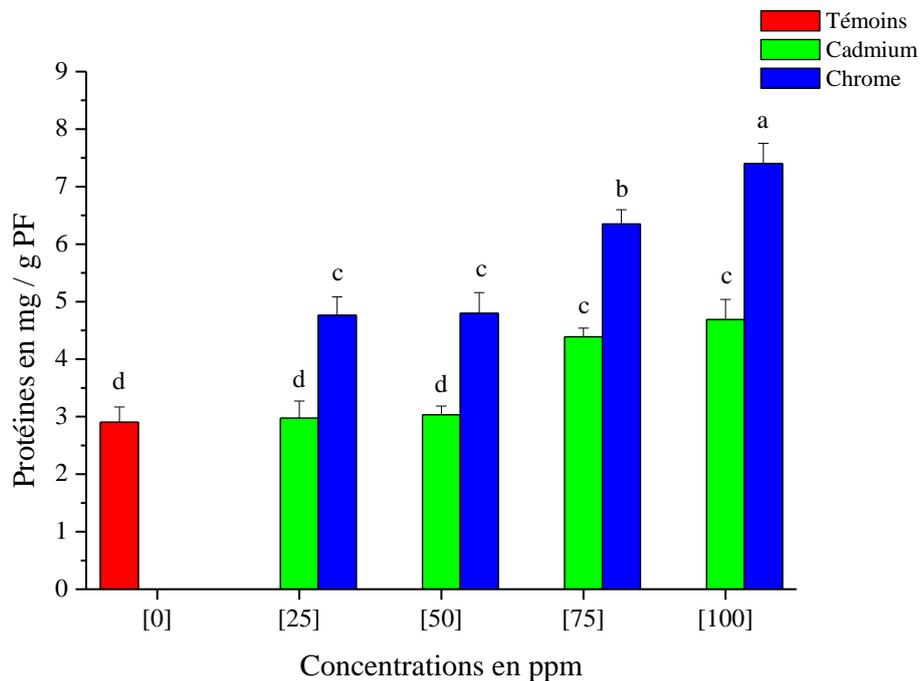


Figure 18 : Evolution des quantités moyennes en protéines des plantules de *Marrubium vulgare* L. en fonction des différentes concentrations [25, 50, 75 et 100 ppm] en $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ et en $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ appliquées au milieu de germination des graines. Les différentes lettres indiquent des différences significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

Lorsqu'on compare entre le contenu en protéines des deux traitements entre eux, on note que pour chacune des concentrations testées, le stress métallique imposé par le chrome induit plus de protéines accumulées que chez les plantules dont les graines ont été au préalable traitées par le cadmium. Le rapport Cr/Cd en est la preuve, puisqu'il tourne autour des valeurs de 1,44 à 1,60 en faveur à chaque fois du traitement au chrome (**Tab. 6**).

Tableau 6 : Contenu en protéines (en mg/g de poids frais) des plantules de *Marrubium vulgare* L. témoins et traitées par différentes concentrations croissantes en chrome et en cadmium.

Contenu moyen en protéines des plantules (en mg/g PF)

| | Témoins | [25 ppm] | [50 ppm] | [75 ppm] | [100 ppm] |
|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| $K_2Cr_2O_7$ | 2,90 ± 0,26 | 4,76 ± 0,32 | 4,79 ± 0,36 | 6,35 ± 0,25 | 7,40 ± 0,34 |
| $Cd(NO_3)_2$ | | 2,97 ± 0,29 | 3,03 ± 0,15 | 4,38 ± 0,15 | 4,68 ± 0,34 |
| Rapport | 1 | 1,60 | 1,58 | 1,44 | 1,57 |

IV-2- Discussion

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

La germination des graines de *M. vulgare* L. est déclenchée au troisième jour, un temps de latence nécessaire pour que les premières graines germent. Ce temps de latence est valable pour les graines témoins et traitées avec un élément métallique, que ce soit du chrome ou bien du cadmium aux concentrations de [25, 50, 75 et 100 ppm].

Très rapidement, vers le 5^{ème} jour, il est observé que pour la concentration de [25 ppm] en chrome, une nette amélioration du pouvoir germinatif des graines du marrube comparativement aux graines témoins, qui se maintient d'ailleurs jusqu'à la fin des expérimentations. Cet état de fait a été un peu moins observé pour la concentration de [50 ppm] et pas du tout pour les concentrations les plus élevées de [75 et 100 ppm]. Au contraire, le traitement au cadmium exerce un effet améliorant, certes à des degrés moindres, mais au moins pour un large éventail de concentrations, [25, 50 et 75 ppm].

Au bout du douzième jour de la germination, le maximum de graines qui germent n'est que de 57% au sein des graines témoins. Cette capacité germinative atteinte par les graines témoins au final est beaucoup moindre que celle atteinte par ce qui a été cité dans les travaux de **Zerarga & Bouanani (2023)**, qui obtiennent au final une capacité germinative de 98%, pour un temps moyen de germination de 4,15 jours. Pourtant, cette capacité germinative est obtenue en travaillant avec les mêmes graines et de la même provenance.

Cette différence de résultats ne peut être expliquée que par la perte de longévité des graines de marrube. En effet, les graines fraîchement cueillies germent beaucoup mieux que les graines d'une année après leur dernière récolte. Avec de tels graines, leur pouvoir germinatif a diminué comme même de près de 42%.

Il n'y a pas donc lieu de comparer par rapport aux résultats obtenus par **Zerarga & Bouanani (2023)**, qui ont testé dans leur cas deux de nos concentrations [50 et 100 ppm] et deux concentrations encore plus élevées [150 et 200 ppm]. A de telles concentrations, le stress imposé aux graines par le chrome ou par le cadmium ne semblent pas entravé la germination. Les % cumulés moyens de germination atteints au final sont proches de ceux des témoins. Ce qui diffère, ce sont les temps moyens de germination qui sont plus longs que ceux des graines témoins et qui s'allongent encore plus à chaque fois que l'on augmente la concentration.

Dans nos cas et indépendamment de la perte de longévité des graines, ce qui prédomine est un tant soit peu l'effet améliorant sur la capacité germinative des graines, exercé par l'agent métallique aux concentrations les plus faibles avec des temps moyens de germination les plus courts. C'est ce que nous avons observé pour la concentration la plus faible de [25 ppm] en chrome ou en cadmium, avec en sus des temps moyens de germination plus courts que ceux des témoins.

Le processus menant à la germination des graines est vulnérable sous influence des éléments traces métalliques, notamment lorsqu'ils sont présents en excès dans l'entourage des graines. Cette vulnérabilité dépend également de la nature des graines et donc de l'espèce (**Kranner and Colville, 2011**). En effet et au-delà de la concentration testée, l'utilisation du chrome réduit la capacité germinative des graines de l'épinard de 34%, de la bette à carde de 29% et de la laitue de 6%. Une utilisation du cadmium réduit la capacité germinative de l'épinard de 8%, de la bette à carde de 46% et de la laitue de 97% (**Bautista et al. 2013**).

Si la germination est fortement affectée par la présence des éléments traces métalliques aux concentrations élevées ; elle l'est moins lorsque les concentrations utilisées sont modérées. Ainsi, le chrome utilisé aux faibles concentrations de [0,5 ; 2,5 ; 5 ; 10 et 25 mg kg⁻¹] n'a que peu d'effets sur la germination des graines d'*Hibiscus esculentus* L. En revanche, le % de germination diminue respectivement de 42,22% et 48,88% lorsque les concentrations sont de [50 et 100 mg kg⁻¹] (**Amin et al. 2013**). C'est aussi le cas chez plusieurs espèces dont les graines ont été soumises à différentes concentrations en chrome, nous pouvons citer *Daucus carrota*, *Raphanus sativus*, *Beta vulgaris*, *Lycopersicum esculentum*, *Solanum melongena*, *Vigna radiata*, *Vigna angularis*, *Medicago sativa*, *Lathyrus odoratus* et *Triticum aestivum* (**Peralta et al. 2001 ; Zayed and Terry, 2003 ; Jun et al. 2009**).

Tout comme le chrome, le cadmium n'influence pas le pouvoir germinatif des graines de *Salvia hispanica* L., lorsqu'il est utilisé à la concentration de 15 mg L⁻¹. Il réduit en revanche de 42%, la capacité germinative des graines lorsque les concentrations testées sont plus élevées [45 et 60 mg L⁻¹] (Stefanello et al. 2019). Idem pour le blé, où la germination décline dès la concentration de 20 mg L⁻¹ (Ahmad et al. 2012), et pour les graines du haricot, dès la concentration de 50 mg L⁻¹ (El Rasafi et al. 2016).

Si on s'intéresse au temps moyen de germination, il a été trouvé que chez *Cucumis melo* L., ce temps augmentait de 1,22 à 2,99 par simple application du chrome qu'on faisait passer d'une concentration faible de 2,5 mg L⁻¹ à une concentration élevée de 300 mg L⁻¹ (Akinci and Akinci, 2010). Dans le cas du traitement au cadmium, les concentrations de [5 ; 20 et 50 mg L⁻¹] ne changent pas ou que peu le temps moyen de germination des graines lorsqu'ils sont appliqués à différents cultivars de blé. Les changements par un allongement du temps moyen de germination sont observés uniquement pour une application la plus forte en cadmium de [80 mg L⁻¹] (Ahmad et al. 2012).

La germination des graines de marrube est influencée par les éléments traces métalliques testés, positivement à la plus faible concentration et négativement lorsqu'on élève la concentration avec même un constat de brunissement des radicules émergentes constaté au bout des douze jours de la durée de la germination.

Ce processus de germination est donc dépendant de la concentration utilisée, de la nature de l'élément testé, de la durée d'application de ce stress et de l'espèce considérée. Il exerce son influence par sa capacité d'abord à traverser le tégument d'une graine, puis d'atteindre les tissus embryonnaires avant d'interagir avec les systèmes enzymatiques hydrolytiques dont le fonctionnement est indispensable à la germination (Mahmood et al. 2007 ; Ko et al. 2012 ; Stefanello et al. 2019).

Justement, l'un des principaux effets de la toxicité qui s'exerce par le chrome ou le cadmium se situe au niveau de l'activité des β -amylases qui se trouve réduite. Cet état de fait inhibe non seulement la respiration et l'état de la perméabilité sélective des systèmes membranaires, mais également l'émergence de la radicule ainsi que la croissance de l'axe embryonnaire (Mihoub et al. 2005 ; He et al. 2008).

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

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

La teneur en eau donne un aperçu sur l'état de gestion de l'eau au sein d'une plante. Les plantes incapables de gérer leur eau en souffrent, notamment par rapport au déroulement de leur activité photosynthétique. Une activité moindre réduit notablement la croissance, le développement et la productivité des plantes. En présence du chrome dans le milieu de germination des graines du marrube, la teneur en eau des plantules qui en sont issues diminue à chaque fois que l'on augmente la concentration de cet élément métallique. Pareil, dans le cas du cadmium où l'on constate une réduction des teneurs en eau de même ordre que ce qui a été observé dans le cas du chrome. Le rapport Cr/Cd est d'ailleurs de 1 pour chacune des concentrations testées, indiquant par-là que les diminutions des teneurs en eau enregistrées sont en tous points identiques.

Dans les travaux de **Zerarga & Bouanani (2023)**, il a été observé une réduction de l'allongement des parties racinaires et des axes hypocotylés. Cette réduction est d'autant plus importante à mesure que l'on augmente la concentration du chrome ou du cadmium dans le milieu de germination des graines. Aussi, il y a lieu de noter que cette réduction est de loin plus importante avec l'utilisation du cadmium que du chrome. L'ensemble de ces constatations ont été liées pour une partie à une diminution des teneurs en eau des plantules qui en sont issues (**Zerarga & Bouanani, 2023**).

C'est ce qui a été décrit en utilisant du chrome dans le milieu de germination des graines de *Cucumis melo* L. (**Akinci and Akinci, 2010**), *Pistia stratiotes* (**Kakkalamei et al. 2021**) et *Camellia sinensis* (**Tang et al. 2012**). C'est aussi vrai dans le cas où l'on utilise du cadmium dans le milieu de germination des graines de *Brassica juncea* (**Alfiya and Dheera, 2015**), de *Crambe abyssinica* (**Hu et al. 2015**), de *Cicer arietinum* (**Ahmad et al. 2016**), de *Salvia hispanica* L. (**Stefanello et al. 2019**) et de *Vigna radiata* (**Anwar et al. 2021**).

En effet et pour l'ensemble de ces espèces, il a été démontré que plus on augmente la concentration de l'élément trace métallique utilisé dans chacun de ces cas, plus l'ensemble des paramètres étudiés diminuent. Il s'agit ici de la capacité germinative des graines, des longueurs des radicules, des longueurs des parties aériennes, de la taille totale des plantules qui en sont issues ainsi que leur poids sec, leur poids frais et les relations hydriques entre les différentes parties.

Pour plusieurs auteurs, la diminution de presque tous ces paramètres est directement liée aux effets exercés par l'élément trace métallique sur les enzymes hydrolytiques, qui jouent un rôle fondamental dans le transport des nutriments vers la radicule et l'axe caulinaire en formation. C'est également expliqué par une inhibition directe de l'élongation et/ou de la division cellulaires, retardant de ce fait la croissance racinaire et réduisant le transport des nutriments et de l'eau (**Bansal et al. 2002 ; Barbosa et al. 2007 ; Lee et al. 2010 ; Mondal et al. 2013 ; Tran and Popova, 2013 ; Stefanello et al. 2019**).

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

Le contenu en sucres solubles des plantules de *M. vulgare* L. n'est pas modifié par la concentration la plus faible en chrome ni par celle en cadmium par comparaison au contenu en sucres solubles des plantules témoins. Il augmente en revanche dans les 2 traitements de près de 15% avec la concentration de [50 ppm]. Au-delà, si le traitement en chrome de [75 ppm] ne permet d'augmenter le contenu en sucres solubles des plantules que de 20%, le traitement appliqué au préalable aux graines par du cadmium le fait augmenter de 29%. Cette différence entre les 2 traitements s'accroît avec la concentration la plus forte de [100 ppm], où l'on note un contenu en sucres solubles de même niveau que celui des témoins lorsqu'il s'agit du chrome, un contenu plus élevé de près de 42% par rapport à celui des témoins lorsqu'il s'agit du cadmium.

Le chrome en excès a la faculté d'inhiber la production de biomasse et le déroulement de la photosynthèse chez deux cultivars du riz. Contrairement aux sucres solubles, le chrome réduit plutôt les niveaux de l'amidon et inhibe les activités de l'amidon synthase chez ces deux cultivars (**AbdElgawad et al. 2023**). Sur un autre plan, différentes concentrations en chrome appliquées à *Cyamopsis tetragonoloba* L. induit une diminution graduelle de la teneur relative en eau avec l'élévation de la concentration en chrome. En parallèle, il a été observé une augmentation importante des sucres réducteurs, qui ne fait qu'augmenter au fur et à mesure que l'on passe d'une concentration la plus faible en chrome à la concentration la plus forte en chrome. Dans le même contexte, le contenu en sucres totaux augmente également graduellement avec l'élévation de la concentration en chrome. Par contre, les niveaux en sucres non-réducteurs et l'amidon voient leurs niveaux diminuer à chaque fois que l'on augmente la concentration du chrome (**Tiwari et al. 2023**). Pour ces auteurs, l'augmentation du niveau en sucres réducteurs est la conséquence d'une inhibition qui s'exerce sur le transport des photoassimilats (**Tiwari et al. 2023**).

Avec le cadmium, une réduction d'environ 40% de la longueur des pousses et de 70% de la longueur des racines a été enregistrée chez les plantules de pois (*Pisum sativum* L.) après 7 jours après la 1^{ère} mise à germination des graines. Ces réductions sont accompagnées d'une diminution de leur contenu en eau. En revanche, le cadmium n'a pas induit de changement significatif de la teneur en sucres totaux, en sucres réducteurs et en saccharose dans les parties racinaires, mais la teneur en amidon diminue. Au niveau des pousses, le saccharose tend à augmenter avec l'application du stress cadmium. C'est aussi le cas de l'amidon au niveau des cotylédons (**Devi et al. 2007**).

Le traitement au cadmium inhibe la croissance du riz et stimule l'accumulation d'hydrates de carbone, notamment dans les semences à partir desquelles les plantules se développent (**Moya et al. 1995**).

Il semble que la faible teneur en amidon au niveau racinaire des plantules stressées par le cadmium serait le résultat d'une synthèse moindre de l'amidon en raison de l'indisponibilité du carbone, qui ne provient plus de l'hydrolyse de l'amidon qui doit s'opérer au niveau des cotylédons grâce à l'activité de l' α -amylase (**Gupta et al. 1993 ; Kaur et al. 2000 ; Chugh and Sawhney, 1996**). L'activité de l' α -amylase diminue à cause de l'indisponibilité des ions calcium, dont la présence est réduite par le seul fait de la présence du cadmium (**Devi et al. 2007**).

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

Selon la concentration en chrome appliquée au préalable aux graines, le contenu protéinique des plantules qui en sont issues ne fait qu'augmenter. L'augmentation par rapport aux témoins est d'abord de 40% pour les concentrations de [25 et 50 ppm], puis de 55% pour la concentration de [75 ppm] et culmine jusqu'à 61% pour la concentration la plus forte de [100 ppm].

Dans des travaux consacrés aux plantules du *Vigna sinensis* L., il a été trouvé que le contenu protéinique augmente lorsqu'on utilise des concentrations assez faibles en chrome, de [2 à 10 ppm]. Par contre, des concentrations plus élevées, dépassant [25 ppm], ne font que baisser ce contenu (**Nath et al. 2008**). C'est ce qui a été signalé également dans une étude consacrée à certains cultivars de *Triticum aestivum* L., où il a été rapporté une baisse du contenu protéinique, qui s'accroît avec l'élévation de la concentration en chrome appliquée (**Datta et al. 2011**). Dans ce dernier travail, la diminution est attribuée au manque de l'azote, indispensable à la synthèse des acides aminés, qui sont les éléments constitutifs des protéines (**Datta et al. 2011**).

A un degré moindre que le traitement au chrome, le traitement au préalable des graines du marrube par du cadmium n'augmente pas le contenu protéinique des plantules qui en sont issues lorsqu'il s'agit des concentrations les plus faibles [25 et 50 ppm]. Ce contenu augmente en revanche de près de 36% pour les traitements les plus forts de [75 et 100 ppm].

En travaillant sur les effets induits par le cadmium sur certains paramètres physiologiques et biochimiques de *Hordeum vulgare* L., il a été démontré une diminution entre autres de leur teneur en protéines. Dans ce cadre, des concentrations de 10, 20 et 30 mM réduisent le taux des protéines racinaires respectivement de 63, 61 et 74% par rapport aux protéines dosées dans les racines des témoins. C'est aussi le cas des protéines des parties aériennes qui diminuent respectivement de 33, 54 et 71% par rapport au total des protéines dosées dans les parties aériennes des témoins. Idem pour les protéines foliaires, qui voient leur teneur diminuer respectivement de 6, 24 et 44% par rapport aux protéines dosées dans les feuilles des témoins (**Gubrelay et al. 2013**).

Les protéines sont susceptibles d'être modifiées par oxydation ou par libération de chaînes peptidiques, ce qui pour conséquence une diminution de leur teneur. C'est ce qui est expliqué par **Rausser (1995)**, qui attribue la diminution du contenu protéinique en présence du cadmium, à la formation de complexes de liaison du Cd^{2+} d'avec trois familles de peptides, lesquels limitent la disponibilité des peptides libres et inhibent ainsi la synthèse des protéines (**Gubrelay et al. 2013**).

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

CONCLUSION

V- Conclusion

La perspective d'utiliser une espèce comme *Marrubium vulgare* L. dans la décontamination des sols pollués par des éléments traces métalliques nous a poussé à entamer un travail, sur d'abord ses propres capacités germinatives en présence de deux métaux lourds, le chrome et le cadmium. Par la suite, nous avons essayé de compléter ce travail en dosant les contenus en sucres solubles et en protéines des plantules issues des germinations qui se sont déroulées avec les différentes concentrations en chrome et en cadmium.

Pour ce faire, on s'est restreint à 4 concentrations différentes d'ordre croissantes, [25, 50, 75 et 100 ppm], en chrome et en cadmium, que nous avons utilisé respectivement sous la forme de dichromate de potassium [$K_2Cr_2O_7$] et de nitrate de cadmium [$Cd(NO_3)_2$]. Les concentrations testées dans nos expérimentations sont sensiblement de toxicité moindre afin de permettre la germination des graines, l'émergence d'une racicule intacte et le développement en une plantule.

Ainsi envisagé, notre travail a commencé par les tests de germination où nous avons rencontré un obstacle de capacité germinative moindre que ce qui a été trouvé par **Zerarga & Bouanani (2023)**. Ces auteurs qui ont travaillé avec le même lot de graines, un an auparavant obtenaient chez les graines témoins, une capacité germinative au final de 98%, pour un temps de latence de 2 jours et pour un temps moyen de germination de 4,15 jours. Cette capacité n'a pas été atteinte dans nos expérimentations où nous avons obtenu un % cumulé moyen de germination final de seulement 57%, pour un temps de latence de 3 jours et pour un temps moyen de germination plus long de 5,46 jours.

La différence dans de tels résultats ne peut être expliquée que par la longévité des graines, une année après la cueillette des akènes qui les portent. Les graines ont perdu de leur capacité germinative avec le temps de conservation. Un facteur déterminant qu'il n'y a pas lieu de négliger.

Au-delà, de ce contretemps rencontré durant nos expérimentations, nous avons observé une capacité germinative rehaussée par la seule présence des deux éléments traces métalliques testés, notamment lorsqu'ils sont utilisés avec leur concentration la plus faible de [25 ppm], avec en prime des temps moyens de germination plus courts que ceux obtenus avec les graines témoins.

Il y a lieu de rapporter qu'aux trois autres concentrations testées de [50, 75 et 100 ppm], le cadmium sans améliorer la capacité germinative des graines, semble beaucoup plus la maintenir à des niveaux très appréciables proches de ceux des graines témoins. Ce n'est pas le cas du chrome, qui fait baisser cette capacité germinative, particulièrement avec les 2 concentrations les plus fortes de [75 et 100 ppm].

A la germination, fait face une expansion de la racine qui s'allonge avec le temps. Au bout du 12^{ème} jour, les plantules qui se sont développées ont été testées par rapport à leur contenu en eau, en sucres solubles et en protéines.

Le chrome tout comme le cadmium font baisser la teneur en eau des plantules issues des germinations traitées par les différentes concentrations. Une première baisse de 2,9 à 3,5% est enregistrée pour des applications faibles de [25 et 50 ppm]. Une seconde baisse encore plus importante, de l'ordre de 4,9 à 6,0% est enregistrée pour des applications fortes de [75 et 100 ppm]. Le rapport Cr/Cd pour chacune des concentrations testées ne dévie pas de 1 pour au moins les trois premières concentrations testées, indiquant que les effets induits par le chrome sur la baisse de la teneur en eau des plantules sont identiques aux effets induits par le cadmium. Une différence significative apparaît pour la concentration la plus forte de [100 ppm], où le chrome exerce une baisse plus notable de la teneur en eau des plantules que celle exercée par le cadmium.

Ces baisses de teneurs en eau ne peuvent que se répercuter sur le déroulement de l'ensemble des activités métaboliques des plantules issues des différents traitements appliqués au préalable aux graines. Ainsi et concernant le contenu en sucres solubles de ces plantules, si la concentration la plus faible de [25 ppm] des deux éléments traces métalliques, ne fait que peu changer ce contenu ; il augmente un peu plus en revanche pour les deux concentrations suivantes de [50 et 75 ppm] par comparaison au contenu en sucres solubles des témoins. Cependant, c'est la concentration la plus forte de [100 ppm] qui marque la différence entre les 2 types de traitements. En effet, pendant que le contenu en sucres solubles augmente de 41,5% chez les traités au cadmium par comparaison aux témoins, il diminue par contre de 15,6% chez les traités au chrome par rapport au contenu en sucres solubles des témoins.

Il est clair que la baisse assez importante de la teneur en eau fait baisser le contenu en sucres solubles lorsque le traitement est du chrome. En revanche, la baisse de la teneur en eau des plantules favorise plutôt une forte accumulation des sucres solubles lorsqu'il s'agit d'un traitement au cadmium.

Paradoxalement, le contenu en protéines des plantules augmente pour les deux types de traitements notamment pour les concentrations les plus fortes de [75 et 100 ppm]. Cependant, l'augmentation de ce contenu est plus importante pour l'application en chrome que pour l'application en cadmium.

Nous ne pouvons tirer pour le moment aucune conclusion hâtive sur cette différence de comportement des plantules de marrube vis-à-vis de ces deux éléments traces métalliques ainsi appliqués. Il serait judicieux d'aller encore plus loin dans les analyses en s'intéressant entre autres aux activités enzymatiques notamment celles liées au métabolisme des sucres et des protéines.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- AbdElgawad H., Mohammed A.E., van Dijk J.R., Beemster G.T., Alotaibi M.O., Saleh A.M. **2023**. The impact of chromium toxicity on the yield and quality of rice grains produced under ambient and elevated levels of CO₂. *Front Plant Sci.* 7:14:1019859. DOI: [10.3389/fpls.2023.1019859](https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1019859)
- Aćimović M., Jeremić K., Salaj N., Gavarić N., Kiprovski B., Sikora V., Zeremski T. **2020**. *Marrubium vulgare* L.: A phytochemical and pharmacological overview. *Molecules* 24;25(12):2898. DOI: [10.3390/molecules25122898](https://doi.org/10.3390/molecules25122898)
- Adriano D.C. **2001**. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. 2nd Edition, Springer, New York, 867 pp. DOI: [10.1007/978-0-387-21510-5](https://doi.org/10.1007/978-0-387-21510-5)
- Ahmad I., Akhtar M.J., Zahir Z.A., Jamil A. **2012**. Effect of cadmium on seed germination and seedling growth of four wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Pakistan Journal of Botany* 44(5):1569-1574. <https://www.researchgate.net/publication/236016436>
- Ahmad P., Abdel Latef A.A., Abd Allah E.F., Hashem A., Sarwat M., Anjum N.A., Gucel S. **2016**. Calcium and potassium supplementation enhanced growth, osmolyte secondary metabolite production, and enzymatic antioxidant machinery in cadmium-exposed chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Frontiers in Plant Science* 27(7):1-12. DOI: [10.3389/fpls.2016.00513](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00513)
- Ahvazi M., Balali G.R., Jamzad Z., Saeidi H. **2018**. A taxonomic, morphological and pharmacological review of *Marrubium vulgare* L., an old medicinal plant in Iran. *Journal of Medicinal Plants* 17(65):7-24. <http://jmp.ir/article-1-2082-en.html>
- Akinci I.E., Akinci S. **2010**. Effect of chromium toxicity on germination and early seedling growth in melon (*Cucumis melo* L.). *African Journal of Biotechnology* 9(29):4589-4594. ISSN: 1684-5315 © 2010 Academic Journals
- Alfiya B., Dheera S. **2015**. Phytotoxic effects of cadmium on seed germination and seedling growth of (*Brassica juncea* L. Czern Coss) cv. *International Research Journal of Biological Sciences* 4(5):80-86. <http://www.isca.me/IJBS/archive/v4/i5/15.ISCA-IRJBS-2015-047.pdf>
- Alsafran M., Usman K., Ahmed B., Rizwan M., Saleem M.H., Al Jabri L. **2022**. Understanding the phytoremediation mechanisms of potentially toxic elements: A

- proteomic overview of recent advances. *Front. Plant Sci.* 13:881242. DOI: [10.3389/fpls.2022.881242](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.881242)
- Amin H., Arain B.A., Amin F., Surhio M.A. **2013**. Phytotoxicity of chromium on germination, growth and biochemical of *Hibiscus esculentus* L. *American Journal of Plant Sciences* 4(12):9 pages. DOI: [10.4236/ajps.2013.412302](https://doi.org/10.4236/ajps.2013.412302)
- Amin H., Arain B.A., Abbasi M.S., Amin F., Jahangir T.M., Soomro N.A. **2019**. Evaluation of chromium phyto-toxicity, phyto-tolerance, and phyto-accumulation using biofuel plants for effective phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation* 21(4):352-363. DOI: [10.1080/15226514.2018.1524837](https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1524837)
- Amri B., Martino E., Vitulo F., Corana F., Kaâb L.B., Rui M., Rossi D., Mori M., Rossi S., Collina S. **2017**. *Marrubium vulgare* L. leave extract: phytochemical composition, antioxidant and wound healing properties. *Molecules* 22:1851-1869. DOI: [10.3390/molecules22111851](https://doi.org/10.3390/molecules22111851).
- Andresen E., Küpper H. **2013**. Cadmium toxicity in plants. *Metal Ions in Life Sciences* 11:395-413. DOI: [10.1007/978-94-007-5179-8_13](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5179-8_13)
- Anwar S., Shafiq F., Nisa Z., Usman U., Ashraf M.Y., Ali N. **2021**. Effect of cadmium stress on seed germination, plant growth and hydrolyzing enzymes activities in mungbean seedlings. *Journal of Seed Science* 43:e202143042, 10 pages. DOI: [10.1590/2317-1545v43256006](https://doi.org/10.1590/2317-1545v43256006)
- Assunção A.G., Schat H., Aarts M.G. **2003**. *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist* 159(2):351-360. DOI: [10.1046/j.1469-8137.2003.00820.x](https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00820.x)
- Ayaz F.A., Kadioğlu A. **1997**. Effects of heavy metals (Zn, Cd, Cu, Hg) on the soluble protein bands of germinating *Lens esculenta* L. seeds. *Turkish Journal of Botany* 21(2):85-88. <http://journals.tubitak.gov.tr/botany/vol21/iss2/3/>
- Bahammou Y., Tagnamas Z., Lamharrar A., Idlimam A. **2019**. Thin-layer drying characteristics of Moroccan horehound leaves (*Marrubium vulgare* L.) under natural and forced convection solar drying. *Solar Energy* 188:958-969. DOI: [10.1016/j.solener.2019.07.003](https://doi.org/10.1016/j.solener.2019.07.003)

- Baker A.J., Walker P.L. **1989**. Physiological responses of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity. *Chemical Speciation & Bioavailability* 1(1):7-17. DOI: [10.1080/09542299.1989.11083102](https://doi.org/10.1080/09542299.1989.11083102)
- Bansal P., Sharma P., Dhindsa K. **2001**. Impact of Pb²⁺ and Cd²⁺ on activities of hydrolytic enzymes in germinating pea seeds. *Ann. Agri-Bio. Res.* 6:113-122. <https://www.researchgate.net/publication/284404196>
- Bansal P., Sharma P., Goyal V. **2002**. Impact of lead and cadmium on enzyme of citric acid cycle in germinating pea seeds. *Biologia Plantarum* 45:125-127. DOI: [10.1023/A:1015173112842](https://doi.org/10.1023/A:1015173112842)
- Barbosa R.M., de Almeida A.F., Mielke M.S., Loguercio L.L., Mangabeira P.A., Gomes F.P. **2007**. A physiological analysis of *Genipa Americana* L.: a potential phytoremediator tree for chromium polluted watersheds. *Environmental and Experimental Botany* 61(3):264-271. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2007.06.001](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.06.001)
- Barceló J., Vázquez M.D., Poschenrieder C. **1988**. Cadmium-induced structural and ultrastructural changes in the vascular system of bush bean stems. *Plant Biology* 101(3):254-261. DOI: [10.1111/j.1438-8677.1988.tb00041.x](https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1988.tb00041.x)
- Baryl A., Carrier P., Franck F., Coulomb C., Sahut C., Havaux M. **2001**. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta* 212(5-6):696-709. DOI: [10.1007/s004250000439](https://doi.org/10.1007/s004250000439)
- Bautista O.V., Fischer G., Cárdenas J.F. **2013**. Cadmium and chromium effects on seed germination and root elongation in lettuce, spinach and Swiss chard. *Agronomia Colombiana* 31(1):48-57. <http://www.researchgate.net/publication/256459382>
- Benavides M.P., Gallego S.M., Tomaro M.L. **2005**. Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(1):21-34. DOI: [10.1590/S1677-04202005000100003](https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100003)
- Bradford M.M. **1976**. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254. DOI: [10.1006/abio.1976.9999](https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999)

- Carović-Stanko K., Petek M., Grdiša M., Pintar J., Bedeković D., Čustić M. Satovic Z. **2016**. Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods – a review. *Czech Journal of Food Sciences* 34(5):377-390. DOI: [10.17221/504/2015-CJFS](https://doi.org/10.17221/504/2015-CJFS)
- Chiffolleau J.F., Cossa D., Auger D., Truquet I. **1994**. Trace metal distribution, partition and fluxes in the sieve estuary (France) in low discharge regime. *Marine Chemistry* 47(2):147-158. DOI: [10.1016/0304-4203\(94\)90105-8](https://doi.org/10.1016/0304-4203(94)90105-8)
- Chugh L.K., Sawhney S.K. **1996**. Effect of cadmium on germination, amylases and rate of respiration of germinating pea seeds. *Environmental Pollution* 92(1):1-5. DOI: [10.1016/0269-7491\(95\)00093-3](https://doi.org/10.1016/0269-7491(95)00093-3)
- Chugh L.K., Sawhney S.K. **1999**. Effect of cadmium on activities of some enzymes of glycolysis and pentose phosphate pathway in pea. *Biologia Plantarum* 42:401-407. DOI: [10.1023/A:1002417319599](https://doi.org/10.1023/A:1002417319599)
- Clemens S. **2006**. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88(11):1707-1719. DOI: [10.1016/j.biochi.2006.07.003](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.07.003)
- Cosio C., DeSantis L., Frey B., Diallo S., Keller C. **2005**. Distribution of cadmium in leaves of *Thlaspi caerulescens*. *Journal of Experimental Botany* 56(412):765-775. DOI: [10.1093/jxb/eri062](https://doi.org/10.1093/jxb/eri062)
- Das P., Samantaray S., Rout G.R. **1997**. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution* 98(1):29-36. PII: [S0269-7491\(97\)00110-3](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(97)00110-3)
- Datta J., Bandhyopadhyay A.K., Banerjee A., Mondal N.K. **2011**. Phytotoxic effect of chromium on the germination, seedling growth of some wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under laboratory condition. *International Journal of Agricultural Technology* 7(2):395-402. <http://www.ijat-aatsea.com> ISSN 1686-9141
- Davies F.T., Puryear J.D., Newton R.J., Egilla J.N., Grossi J.A. **2002**. Mycorrhizal fungi increase chromium uptake by sunflower plants: influence on tissue mineral concentration, growth, and gas exchange. *Journal of Plant Nutrition* 25(11):2389-2407. DOI: [10.1081/PLN-120014702](https://doi.org/10.1081/PLN-120014702)

- De la Rosa G., Peralta-Videa J.R., Montes M., Parsons J.G., Cano-Aguilera I., Gardea-Torresdey J.L. **2004**. Cadmium uptake and translocation in tumbleweed (*Salsola kali*), a potential Cd-hyperaccumulator desert plant species: ICP/OES and XAS studies. *Chemosphere* 55(9):1159-1168. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2004.01.028](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.01.028)
- Devi R., Munjral N., Gupta A.K., Kaur N. **2007**. Cadmium induced changes in carbohydrate status and enzymes of carbohydrate metabolism, glycolysis and pentose phosphate pathway in pea. *Environmental and Experimental Botany* 61:167-174. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2007.05.006](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.006)
- Djahra A.B., Bordjiba O., Benkherara S. **2015**. Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare* L. de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Synthèse : Revue des Sciences et de la Technologie* 24, 29-37.
- Djebali W., Chaïbi W., Ghorbel M.H. **2002**. Growth, peroxidase activity and ultrastructural modifications induced by cadmium in tomato roots. *Canadian Journal of Botany* 80(9):942-953. DOI: [10.1139/b02-062](https://doi.org/10.1139/b02-062)
- Doran J.C., Gunn B.V. **1987**. Treatments to promote seed germination in Australian acacias. In the series analytic: Australian acacias in developing countries, edited by J.W. Turnbull. *Proceedings of the International Workshop, Forestry Training Centre, Gympie, Qld., Australia, August 4-7, 1986:57-63*. http://www.aciar.gov.au/sites/default/files/legacy/node/13315/pr16_pdf_11161.pdf
- Duffus J.H. **2002**. Heavy metal – A meaningless term? *Pure and Applied Chemistry* 74:793-807. DOI: [10.1351/pac200274050793](https://doi.org/10.1351/pac200274050793)
- El Rasafi T., Nouri M., Bouda S., Haddioui A. **2016**. The Effect of Cd, Zn and Fe on seed germination and early seedling growth of wheat and bean. *Ekológia (Bratislava)* 35(3):213-223. DOI: [10.1515/eko-2016-0017](https://doi.org/10.1515/eko-2016-0017)
- Evenari M. **1957**. The physiological action and biological importance of germination inhibitors. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 11:21-44. PMID: [13486465](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13486465/)
- Farooq M.A., Ali S., Hameed A., Bharwana S.A., Rizwan M., Ishaque W., Farid M., Mahmood K., Iqbal Z. **2016**. Cadmium stress in cotton seedlings: physiological,

- photosynthesis and oxidative damages alleviated by glycinebetaine. *South African Journal of Botany* 104:61-68. DOI: [10.1016/j.sajb.2015.11.006](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.11.006)
- Genchi G., Sinicropi M.S., Lauria G., Carocci A., Catalano A. **2020**. The effects of cadmium toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(11):3782-413. DOI: [10.3390/ijerph17113782](https://doi.org/10.3390/ijerph17113782)
- Gubrelay U., Agnihotri R.K., Singh G., Kaur R., Sharma R. **2013**. Effect of heavy metal Cd on some physiological and biochemical parameters of Barley (*Hordeum vulgare* L.). *International Journal of Agriculture and Crop Science* 5(22):2743-2751. ISSN: 2227-670X © 2013 IJACS Journal
- Gupta A.K., Sinha S. **2006**. Chemical fractionation and heavy metal accumulation in the plant of *Sesamum indicum* (L.) var. T55 grown on soil amended with tannery sludge: selection of single extractants. *Chemosphere* 64(1):161-173. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2005.10.016](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.10.016)
- Haider F.U., Liqun C., Coulter J.A., Cheema S.A., Wu J., Zhang R., Wenjun M., Farooq M. **2021**. Cadmium toxicity in plants: impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 211:111887. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2020.111887](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111887)
- Han M., Ullah H., Yang H., Yu G., You S., Liu J., Chen B., Shabab A., Antoniadis V., Shaheen S.M., Rinkelbe J. **2023**. Cadmium uptake and membrane transport in roots of hyperaccumulator *Amaranthus hypochondriacus* L. *Environmental Pollution* 331(1):121846. DOI: [10.1016/j.envpol.2023.121846](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121846)
- Hayat J., Akodad M., Moumen A., Baghour M., Skalli A., Ezrari S., Belmalha S. **2020**. Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon* 6(11):e05609. DOI: [10.1016/j.heliyon.2020.e05609](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05609)
- He J., Ren Y., Zhu C., Jiang D. **2008**. Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and seed amylase activities in rice (*Oryza sativa*). *Rice Science* 15(4):319-325. DOI: [10.1016/S1672-6308\(09\)60010-X](https://doi.org/10.1016/S1672-6308(09)60010-X)
- Hu J., Deng Z., Wang B., Zhi Y., Pei B., Zhang G., Luo M., Huang B., Wu W., Huang B. **2015**. Influence of heavy metals on seed germination and early seedling growth in

- Crambe abyssinica*, a potential industrial oil crop for phytoremediation. *American Journal of Plant Science* 6(1):150-156. DOI: [10.4236/ajps.2015.61017](https://doi.org/10.4236/ajps.2015.61017)
- Jain R., Srivastava S., Madan V.K. **2000**. Influence of chromium on growth and cell division of sugarcane. *Indian Journal of Plant Physiology* 5(3):228-231. ISSN: 0019-5502
- Julve P. **2021**. Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. www.tela-botanica.org/projets/phytosociologie
- Jun R., Ling T., Guanhua Z. **2009**. Effects of chromium on seed germination, root elongation and coleoptile growth in six pulses. *International Journal of Environmental Science & Technology* 6:571-578. DOI: [10.1007/BF03326097](https://doi.org/10.1007/BF03326097)
- Kakkalameli S.B., Daphedar A., Govindappa M., Taranath T.C. **2021**. Effect of chromium on morphological and biochemical responses on aquatic macrophyte *Pistia stratiotes* L. (water lettuce). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 12(1):633-639. DOI: [10.13040/IJPSR.0975-8232.12\(1\).633-39](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.12(1).633-39)
- Kaur S., Gupta A.K., Kaur N. **2000**. Kinetin and indole acetic acid on carbohydrate metabolism in chickpea seedlings germinating under water stress. *Plant Growth Regulation* 30(1):61-70. DOI: [10.1023/A:1006371219048](https://doi.org/10.1023/A:1006371219048)
- Ko K.S., Lee P.K., Kong I.C. **2012**. Evaluation of the toxic effects of arsenite, chromate, cadmium, and copper using a battery of four bioassays. *Applied Microbiology and Biotechnology* 95(5):1343-1350. DOI: [10.1007/s00253-011-3724-2](https://doi.org/10.1007/s00253-011-3724-2)
- Kranner I., Colville L. **2011**. Metals and seeds: biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environmental and Experimental Botany* 72(1):93-105. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2010.05.005](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.05.005)
- Lee K., Bae D.W., Kim S.H., Han H.J., Liu X., Park H.C., Lim C.O., Lee S.Y., Chung W.S. **2010**. Comparative proteomic analysis of the short-term responses of rice roots and leaves to cadmium. *Journal of Plant Physiology* 167(3):161-168. DOI: [10.1016/j.plph.2009.09.006](https://doi.org/10.1016/j.plph.2009.09.006)
- 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)

- Lopez-Bucio J.S., Ravelo-Ortega G., Lopez-Bucio J. **2022**. Chromium in plant growth and development: toxicity, tolerance and hormesis. *Environnemental Pollution* 1:312:120084. DOI: [10.1016/j.envpol.2022.120084](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120084)
- Mahmood T., Islam K.R., Muhammad S. **2007**. Toxic effects of heavy metals on early growth and tolerance of cereal crops. *Pakistan Journal of Botany* 39(2):451-462. ISSN: 0556-3321
- Marchiol L., Leita L., Martin M., Peressotti A., Zerbi G. **1996**. Physiological responses of two soybean cultivars to cadmium. *Journal of Environmental Quality* 25(3):562-566. DOI: [10.2134/jeq1996.00472425002500030022x](https://doi.org/10.2134/jeq1996.00472425002500030022x)
- Masoodi M., Ali Z., Liang S., Yin H., Wang W., Khan I.A. **2015**. Labdane diterpenoids from *Marrubium vulgare*. *Phytochemistry Letters* 13:275-279. DOI: [10.1016/j.phytol.2015.07.005](https://doi.org/10.1016/j.phytol.2015.07.005)
- McCready R.M., Guggolz J., Silveira V., Owens H.S. **1950**. Determination of starch and amylose in vegetables. *Anal. Chem.* 22(9):1156-1158. DOI: [10.1021/ac6004a016](https://doi.org/10.1021/ac6004a016)
- Michel J., Abd Rani N., Husain K. **2020**. A review on the potential use of medicinal plants from Asteraceae and Lamiaceae plant family in cardiovascular diseases. *Front Pharmacol* 11:852. DOI: [10.3389/fphar.2020.00852](https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00852)
- Mihoub A., Chaoui A., El Ferjani E. **2005**. Changements biochimiques induits par le cadmium et le cuivre au cours de la germination des grains de petit pois (*Pisum sativum* L.). *Comptes Rendus Biologies* 328(1):33-41. DOI: [10.1016/j.crvi.2004.10.003](https://doi.org/10.1016/j.crvi.2004.10.003)
- Mitra S., Chakraborty A.J., Tareq A.M., Emran T.B., Nainu F., Khusro A., Idris A.M., Khandaker M.U., Osman H., Alhumaydhi F.A., Simal Gandara J. **2022**. Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. *Journal of King Saud University - Science* 34(3):101865. DOI: [10.1016/j.jksus.2022.101865](https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101865)
- Mohan D., Pittman C.U. **2006**. Activated carbons and low cost adsorbents for remediation of tri- and hexavalent chromium from water. *Journal of Hazardous Materials* 137(2):762-811. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2006.06.060](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.06.060)

- Mondal N.K., Das C., Roy S., Datta J.K., Banerjee A. **2013**. Effect of varying cadmium stress on chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedlings: an ultrastructural study. *Annals of Environmental Science* 7(1):59-70. <https://openjournals.neu.edu/aes/journal/article/view/v7art5>
- Moya J.L., Ros R., Picazo I. **1995**. Heavy metal-hormone interactions in rice plants: effects on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution. *J. Plant Growth Regul.* 14:61-67. DOI: [10.1007/BF00203115](https://doi.org/10.1007/BF00203115)
- Nath K., Singh D., Shyam S., Sharma Y.K. **2008**. Effect chromium and tannery effluent toxicity on metabolism and growth in cowpea (*Vigna sinensis* L. Saviex Hassk) seedling. *Research in Environment and Life Science* 1(3):91-94. ISSN: 0974-4908 / http://www.geocities.com/rel_sci
- 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)
- Nies D. **1999**. Microbial heavy-metal resistance. *Applied Microbiology Biotechnology* 51:730-750. DOI: [10.1007/s002530051457](https://doi.org/10.1007/s002530051457)
- Peralta J.R., Gardea Torresdey J.L., Tiemann K.J., Gomez E., Arteaga S., Rascon E., Parsons J.G. **2001**. Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 66(6):727-734. DOI: [10.1007/s001280069](https://doi.org/10.1007/s001280069)
- Popoola O.K., Elbagory A.M., Ameer F., Hussein A. **2013**. Marrubiin. *Molecules* 18(8):9049-9060. DOI: [10.3390/molecules18089049](https://doi.org/10.3390/molecules18089049)
- Popova L.P., Maslenkova L.T., Ivanova A.P., Stoinova Z. **2012**. Role of salicylic acid in alleviating heavy metal stress. P. Ahmad, M.N. Prasad (Eds.), *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change*. Springer, New York, Dordrecht, Heidelberg, London, pp. 441-466. DOI: [10.1007/978-1-4614-0815-4_21](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0815-4_21)
- Punz W.F., Sieghardt H. **1993**. The responses of roots of herbaceous plant species to heavy metals. *Environmental and Experimental Botany* 33(1):85-98. DOI: [10.1016/0098-8472\(93\)90058-N](https://doi.org/10.1016/0098-8472(93)90058-N)

- Quezel P., Santa S. **1963**. Nouvelle flore de l'Algérie et de ses régions désertiques méridionales. Tome II. Paris, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique. In : *La Terre et la Vie, Revue d'histoire Naturelle, tome 18, N°2, 1964, p.238*. [www.persee.fr/doc /revec_0040-3865_1964_num_18_2_4410_t1_0238_0000_2](http://www.persee.fr/doc/revec_0040-3865_1964_num_18_2_4410_t1_0238_0000_2)
- Raskin I., Kumar P.N., Dushenkov S., Salt D.E. **1994**. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotechnology* 5(3):285-290. DOI: [10.1016/0958-1669\(94\)90030-2](https://doi.org/10.1016/0958-1669(94)90030-2)
- Rauser W.E. **1995**. Phytochelatins and related peptides: structure, biosynthesis, and function. *Plant Physiology* 109(4):1141-1149. <https://www.jstor.org/stable/4276913>
- Raychaudhuri S.S., Pramanick P., Talukder P., Basak A. **2021**. Chapter 6 – Polyamines, metallothioneins, and phytochelatins-Natural defense of plants to mitigate heavy metals. *Part of volume, Bioactive Natural Products, Edited by Atta-ur-Rahman. Studies in Natural Products Chemistry* 69:227-261. DOI: [10.1016/B978-0-12-819487-4.00006-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819487-4.00006-9)
- Redondo-Gómez S., Mateos-Naranjo E., Davy A.J., Fernández-Muñoz F., Castellanos E.M., Luque T., Figueroa M.E. **2007**. Growth and photosynthetic responses to salinity of the salt-marsh shrub *Atriplex portulacoides*. *Annals of Botany* 100(3):555-563. DOI: [10.1093/aob/mcm119](https://doi.org/10.1093/aob/mcm119)
- Rivetta A., Negrini N., Cocucci M. **1997**. Involvement of Ca²⁺-calmodulin in Cd²⁺ toxicity during the early phases of radish (*Raphanus sativus* L.) seed germination. *Plant Cell Environment* 20:600-608. DOI: [10.1111/j.1365-3040.1997.00072.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1997.00072.x)
- Samantaray S., Rout G.R., Das P. **1998**. Role of chromium on plant growth and metabolism. *Acta Physiologiae Plantarum* 20:201-212. DOI: [10.1007/s11738-998-0015-3](https://doi.org/10.1007/s11738-998-0015-3)
- Sanità di Toppi L., Gabbrielli R. **1999**. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41(2):105-130. DOI: [10.1016/S0098-8472\(98\)00058-6](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(98)00058-6)
- Shahid M., Shamshad S., Rafiq M., Khalid S., Bibi I., Niazi N.K., Dumat C., Rashid M.I. **2017**. Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in

- soil-plant system: a review. *Chemosphere* 178:513-533. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2017.03.074](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.074)
- Shanker A.K., Cervantes C., Loza-Tavera H., Avudainayagam S. **2005**. Chromium toxicity in plants. *Environment International* 31(5):739-753. DOI: [10.1016/j.envint.2005.02.003](https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.02.003)
- Shen X., Dai M., Yang J., Sun L., Tan X., Peng C., Ali I, Naz I. **2022**. A critical review on the phytoremediation of heavy metals from environment: performance and challenges. *Chemosphere* 291(3):132979. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2021.132979](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132979)
- Singh H.P., Mahajan P., Kaur S., Batish D.R., Kohli R.K. **2013**. Chromium toxicity and tolerance in plants. *Environmental Chemistry Letters* 11:229-254. DOI: [10.1007/s10311-013-0407-5](https://doi.org/10.1007/s10311-013-0407-5)
- Sinha V., Pakshirajan K., Chaturvedi R. **2018**. Chromium tolerance, bioaccumulation and localization in plants: An overview. *J. Environ. Manage.* 15:206:715-730. DOI: [10.1016/j.jenvman.2017.10.033](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.10.033)
- Spichiger R.E., Savolainen V.V., Figeat-Hug M., Jeanmonod D., Perret M. **2004**. Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. *Lausanne : Presses polytechniques et universitaires romandes.* 413 pp
- Stefanello R., Viana B.B., das Neves L.A. **2019**. Cadmium toxicity on seed germination and initial growth of chia. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 41:e42174. DOI: [10.4025/actascibiolsci.v41i1.42174](https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v41i1.42174)
- Sun Y.D., Luo W.R. **2014**. Effects of exogenous hydrogen sulphide on seed germination and seedling growth of cucumber (*Cucumis sativus*) under sodium bicarbonate stress. *Seed Science and Technology* 42(2):126-131. DOI: [10.15258/sst.2014.42.2.02](https://doi.org/10.15258/sst.2014.42.2.02)
- Tang J., Xu J., Wu Y., Li Y., Tang Q. **2012**. Effects of high concentration of chromium stress on physiological and biochemical characters and accumulation of chromium in tea plant (*Camellia sinensis* L.). *African Journal of Biotechnology* 11(9):2248-2255. DOI: [10.5897/AJB.11.2402](https://doi.org/10.5897/AJB.11.2402)

- Tiwari K.K., Bidhar M.K., Singh N.K. **2023**. Induced toxicity and bioaccumulation of chromium (VI) in cluster bean: oxidative stress, antioxidative protection strategy, accumulation and translocation of certain nutrient. *Jordan Journal of Biological Sciences* 16(2):249-258. DOI: [10.54319/jjbs/160209](https://doi.org/10.54319/jjbs/160209)
- Tran T.A., Popova L.P. **2013**. Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turkish Journal of Botany* 37(1):1-13. DOI: [10.3909/bot-1112-16](https://doi.org/10.3909/bot-1112-16)
- Wagner G.J. **1993**. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Advances in Agronomy* 51:173-212. DOI: [10.1016/S0065-2113\(08\)60593-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60593-3)
- 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)
- Wu S., Hu Y., Zhang X., Sun Y., Wu Z., Li T., Lv J., Li J., Zhang J., Zheng L., Huang L. **2018**. Chromium detoxification in arbuscular mycorrhizal symbiosis mediated by sulfur uptake and metabolism. *Environmental and Experimental Botany* 147:43-52. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2017.11.010](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.11.010)
- 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)
- Zayed A.M., Terry N. **2003**. Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. *Plant and Soil* 249:139-156. DOI: [10.1023/A:1022504826342](https://doi.org/10.1023/A:1022504826342)
- Zeid I.M. **2001**. Responses of *Phaseolus vulgaris* chromium and cobalt treatments. *Biologia Plantarum* 44(1):111-115. DOI: [10.1023/A:1017934708402](https://doi.org/10.1023/A:1017934708402)
- Zerarga A., Bouanani K. **2023**. Etude des effets du cadmium et du chrome sur l'efficacité germinative des graines de *Marrubium vulgare* L. *Mémoire de Fin de Cycle, Université de Bejaia* 101 pages.
- 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](https://www.isbn-international.org/product/978-99959-0-205-6)

Zulfiqar U., Jiang W., Xiukang W., Hussain S., Ahmad M., Maqsood M.F., Ali N., Ishfaq M., Kaleem M., Haider F.U., Farooq N., Naveed M., Kucerik J., Brtnicky M., Mustafa A. **2022**. Cadmium phytotoxicity, tolerance, and advanced remediation approaches in agricultural soils; a comprehensive review. *Frontiers in Plant Science* 13:773815. DOI: [10.3389/fpls.2022.773815](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.773815)

Zulfiqar U., Haider F.U., Ahmad M., Hussain S., Maqsood M.F., Ishfaq M., Shahzad B., Waqas M.M., Ali B., Tayyab M.N., Ahmad S.A., Khan I., Eldin S.M. **2023**. Chromium toxicity, speciation, and remediation strategies in soil-plant interface: A critical review. *Frontiers in Plant Science* 13:1081624. DOI: [10.3389/fpls.2022.1081624](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1081624)

Résumé

L'objectif de cette étude est de déterminer et de comparer les effets de deux éléments traces métalliques sur la germination des graines de *Marrubium vulgare* L., ainsi que sur les premiers stades de la croissance des plantules qui en sont issues. Les deux éléments métalliques étudiés sont le chrome et le cadmium, apportés respectivement sous forme de dichromate de potassium [$K_2Cr_2O_7$] et de nitrate de cadmium [$Cd(NO_3)_2$]. Les concentrations testées dans les milieux de germination sont de [25, 50, 75 et 100 ppm] et les paramètres considérés au niveau des plantules sont leur teneur en eau, leur contenu en sucres solubles et en protéines.

La germination des graines commence au 3^{ème} jour et le maximum de graines qui germent est atteint vers le 7^{ème} au 8^{ème} jour. Ce maximum de graines qui germent est amélioré par le chrome à la concentration la plus faible de [25 ppm], il l'est également pour le cadmium aux concentrations de [25 et 50 ppm]. La diminution de cette capacité germinative s'exerce dès la concentration de [75 ppm] avec le chrome ; elle n'est effective qu'avec la concentration de [100 ppm] en cadmium. D'autre part, lorsque l'effet améliorant s'exerce sur la germination, les temps moyens de germination des traités sont plus courts que ceux des témoins.

Les plantules issues des différentes germinations perdent de leur teneur en eau. La quantité d'eau perdue s'accroît notablement avec les applications les plus élevées en cadmium et en chrome. Leur contenu en sucres solubles ne change pas ou que peu pour la concentration la plus faible de [25 ppm]. Il tend à augmenter légèrement lorsque les concentrations sont de [50 et 75 ppm]. Le changement est très manifeste avec l'application la plus élevée de [100 ppm], où la quantité en sucres solubles augmente de 41,5% dans le cas du cadmium pendant qu'elle diminue de 15,6% dans le cas du chrome. Parallèlement, leur contenu protéinique n'augmente de 36% que lorsque les concentrations appliquées sont de [75 et 100 ppm] dans le cas du traitement au cadmium. Le chrome en revanche, ne fait qu'augmenter ce contenu en protéines, assez substantiellement lorsqu'il s'agit des concentrations les plus élevées.

Mots-clés : *Marrubium vulgare* L. ; chrome ; cadmium ; germination ; teneur en eau ; sucres solubles ; protéines.

Abstract

The aim of this study was to determine and compare the effects of two trace metals on the germination of *Marrubium vulgare* L. seeds and on the early stages of growth of the resulting seedlings. The two metallic elements studied were chromium and cadmium, supplied in the form of potassium dichromate [$K_2Cr_2O_7$] and cadmium nitrate [$Cd(NO_3)_2$] respectively. The concentrations tested in the germination media were [25, 50, 75 and 100 ppm] and the parameters considered in the seedlings were their water content, soluble sugar content and protein content.

Seed germination begins on day 3 and the maximum number of germinating seeds is reached around day 7 or 8. This maximum number of germinating seeds is enhanced by chromium at the lowest concentration of [25 ppm], and also by cadmium at concentrations of [25 and 50 ppm]. The reduction in this germination capacity starts at a concentration of [75 ppm] with chromium; it is only effective at a cadmium concentration of [100 ppm]. On the other hand, when the improving effect was applied to germination, the average germination times of the treated plants were shorter than those of the controls.

The seedlings resulting from the various germinations lose their water content. The amount of water lost increases significantly with the highest applications of cadmium and chromium. Their soluble sugar content changes little or not at all at the lowest concentration of [25 ppm]. It tends to increase slightly at concentrations of [50 and 75 ppm]. The change is very clear at the highest application of [100 ppm], where the quantity of soluble sugars increases by 41.5% in the case of cadmium, while it decreases by 15.6% in the case of chromium. At the same time, their protein content only increased by 36% when the concentrations applied were [75 and 100 ppm] in the case of cadmium treatment. Chromium, on the other hand, only increases this protein content, quite substantially at the highest concentrations.

Keywords: *Marrubium vulgare* L., chromium, cadmium, germination, water content, soluble sugars, proteins.