



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Mostaganem
Faculté des sciences de la nature et de la vie



Département de Biologie
Laboratoire de recherche
Biodiversité et Conservation des Eaux et des Sols

Mémoire
Présenté par

CHAMOUMA Fethia
GHEDDAB Nadjiya

En vue de l'obtention du diplôme de **MASTER**
En Biodiversité et Environnement

Intitulé

Effet du plomb sur la germination des graines de
***Cleome amblyocarpa* Barr.& Murb**

Soutenu en Juin 2020 devant le jury composé de :

MOSTARI Abassia.	Président	Université de Mostaganem
REGUIEG Yssaad Houcine Abdelhakim. Pr	Rapporteur	Université de Mostaganem
HAMAD Hanane –Doctorante	Examineur	Université de Mostaganem
BENNAOUM Aicha –Doctorante	Co-encadreur	Université de Mostaganem

Année universitaire : 2019-2020

REMERCIEMENTS

Nous remercions tout d'abord BENNAOUM Aicha le tout puissant qui nous a fourni l'aide et la pour réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur : REGUIEG Yssaad Houcine Abdelhakim pour ses merveilleux conseils, et orientations.

Nous remercions tous nos enseignants pour l'enseignement qu'ils nous ont donné durant notre cycle universitaire.

Sans oublier les membres du jury d'avoir accepté de nous honorer par leur participation au jury.

Ainsi nous présentons nos remerciements à l'ensemble des étudiants du département des Sciences de la nature et la vie.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mon adorable mère, qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse

A ma famille, que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A mes amies que j'ai connu jusqu'à maintenant, merci pour leurs amours et leurs encouragements.

Sans oublier mon binôm pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet

Fethia

Dédicaces

*Avant tout je remercie mon DIEU le tout puissant qui m'a
donné la ténacité pour achever ce travail.*

*C'est très agréable de sentir que j'ai bien et pu faire ce
modeste travail, mais le plus agréable c'est de le dédier :*

A mes très chers parents que Dieu les protège.

A mon frère et ma sœur.

A toute la famille Saidoune&gheddab sans exception

Tous mes ami(e) s les plus chers.

Nadjiya

Listes des abréviations

Cd : cadmium

Cu : cuivre

Zn : zinc

Pb : plomb

Fer : fer

Hg : mercure

Ni : nickel

Se : selenium

Cr : chrome

ETM : Element Trace Métallique

PbS : galène

PbCO₃ : cérussite

PbSO₄ : anglésite

Listes des tableaux

Tableau 1 : Caractères d'essentialité et de toxicité de quelques éléments traces.....	4
Tableau 2 : Liste non exhaustive de la provenance des métaux lourds et métalloïdes dans l'environnement.....	5
Tableau 3 : Propriétés physico-chimique du plomb.....	11
Tableau 4 : Concentrations en métaux et métalloïdes définissant les limites de qualité d'une eau potable (Législation Algérienne, Organisation Mondiale de la Santé (OMS)).....	18
Tableau 5 : Les activités biologiques du genre <i>Cleome</i>	29

Listes des figures

Fig. 1 : Origine et distribution des éléments traces	4
Fig. 2 : Localisation (spéciation) des éléments en traces métalliques (ETM) dans le sol.....	6
Fig. 3 : pollution des sols et phytodisponibilité.....	7
Fig. 4 : Sources anthropiques de la pollution en plomb	13
Fig .5 : Les différentes stratégies de remédiation des sols pollués. (Énergie, ressources naturelles, impacts).....	19
Fig .6 : Méthodes de phytoremédiation	21
Fig .7 : Technique dephytodégradation	21
Fig .8 : Technique de la phytostabilisation	22
Fig .9: Technique de phytoextraction.	23
Fig .10 : Technique de volatilisation	23
Fig.11: Processus de la rhizofiltration	24
Fig. 12 : Effets de l'implantation d'un couvert végétal sur un sol contaminé	25
Fig.13: Arbre de phylogénie botanique du genre Cleome	27
Fig 14: plante Cleomeamblyocarpa Barr. &Murb.....	28
Fig 15: Gousses de cleome amblyocarpa.....	29
fig 16: Graines de cleomeamblyocarpa.....	29
Fig17. Schéma de la germination épigée et hypogée	29
Fig. 18 : Absorption d'eau par la semence au cours de la germination et du début d'allongement de la racicule.	31
Fig.19 : Schéma du mécanisme de l'apport d'oxygène à l'embryon, à travers les enveloppes séminales imbibées qui renferment des composés phénoliques	34
Fig. 20: Localisation de Faculté des sciences exactes et de l'informatique Université de Mostaganem - Site 2	38
Fig. 21 : Site de collecte des semences	39
Fig. 22: A-Cleomeamblyocarpa Barr. &Murb; B- gousses; C- graines.....	39
Fig. 23 : Lavage des graines avec l'hypochlorite de sodium 8°.....	40
Fig 24 : Rinçage avec l'eau distillée et Imbibition des graines.....	41

Fig. 25 : dispositif expérimental.....	41
Fig. 26 : Germination des graines de <i>Cleomeamblyocarpa</i> Barr &Murb.....	42

Résumé

Le plomb (Pb) est un métal lourd très toxique pour les plantes, les animaux et les humains, il pose actuellement des problèmes importants en matière de contamination de l'environnement. Les plantes, du fait de leur immobilité, sont particulièrement exposées. Le but de cette étude était d'évaluer l'effet du stress provoqué par le plomb sur la germination des graines et la croissance des plantules de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb.

Les semences ont été mises à germer en présence du nitrate de plomb $Pb(NO_3)_2$ à des concentrations variées (0, 50, 100, 150, 200 et 250ppm) et dans des conditions contrôlées (température de 26°C et en obscurité) pendant 15 jours .

Les résultats obtenus ont montré que les graines scarifiées de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb se caractérisent par une bonne aptitude de germer à des faibles concentrations de plomb. La longueur des tiges et des racines des semis et l'indice de tolérance diminuent considérablement avec l'augmentation des niveaux de plomb. L'augmentation des concentrations de Pb augmente considérablement le pourcentage de phytotoxicité sur la longueur des racines de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb.

Le seuil de tolérance se situe au-dessous de 150 ppm en $Pb(NO_3)_2$. Au-delà, le pouvoir germinatif décline et l'effet toxique augmente proportionnellement avec l'élévation de la concentration de l'élément trace métallique.

Mots-clés: Plomb, stress métallique, *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb , germination .

Abstract

Lead (Pb) is a heavy metal that is highly toxic to plants, animals and humans. It currently poses significant problems in terms of environmental contamination. Plants, because of their immobility, are particularly exposed. The purpose of this study was to evaluate the effect of lead stress on seed germination and seedling growth of *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb.

Seeds were germinated in the presence of lead nitrate $Pb(NO_3)_2$ at various concentrations (0, 50, 100, 150, 200 and 250ppm) and under controlled conditions (temperature 26°C and darkness) for 15 days.

The results obtained showed that scarified seeds of *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb are characterized by a good germination ability at low lead concentrations. The length of seedling stems and rootlets and the tolerance index decrease considerably with increasing lead levels. The increase in Pb levels significantly increases the percentage of phytotoxicity along the length of the roots of *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb.

The tolerance threshold is below 150 ppm $Pb(NO_3)_2$. Above this level, the germinative power declines and the toxic effect increases proportionally with the increase in the concentration of the metallic trace element.

Keywords: Lead, metallic stress, *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb, Germination.

المخلص

الرصاص هو احد الفلزات الثقيلة السامة التي تؤثر على النبات و الحيوان و الإنسان, يعتبر حاليا مشكلة رئيسية في التلوث البيئي ، فالنباتات ، بسبب عدم ثباتها ، تتعرض بشكل خاص. كان الغرض من هذه الدراسة هو تقييم تأثير إجهاد الرصاص على إنبات بذور ونمو شتلات ذفرة كليلة الثمرة.

وقد نبتت البذور في وجود $Pb(NO_3)_2$ في تركيزات مختلفة (0, 50 , 100 , 150 , 200 , 250 جزء في المليون) وتحت ظروف خاضعة للرقابة (27 C° درجة حرارة الطقس, الظلام) لمدة 15 يوم .

وأظهرت النتائج أن بذور ذفرة كليلة الثمرة تتميز بالقدرة الجيدة على النمو في تركيزات منخفضة من $Pb(NO_3)_2$ و في عتبة أقل من 150 جزء في المليون. كما يقل زيادة طول سيقان و جذور البذور في تراكيز عالية , بالإضافة الى زيادة نسبة السمية على البذور .

كلمات البحث : الرصاص, إجهاد معدني, ذفرة كليلة الثمرة ,النمو.

TABLE DE MATIERE

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction générale	1

Partie bibliographique

Chapitre I : Métaux lourds

I.1. I.1. Généralités sur les métaux lourds	3
I.2. Définition	3
I.3. Origines des métaux présents dans le sol	3
I.3.1. Sources naturelles	5
I.3.2. Sources anthropiques	5
I.4. Spéciation, mobilité et biodisponibilité des métaux lourds	6
I.4.1. Spéciation	6
I.4.2. Mobilité	7
I.4.3. Biodisponibilité	7
I.5. Facteurs modifiant la mobilité des métaux lourds	7
I.5.1. Potentiel hydrogène (pH)	7
I.5.2. Potentiel redox (Eh)	7
I.5.3. Activité biologique	8
a- Solubilisation	8
b- Insolubilisation	8
c- Volatilisation	9
I.5.4. Température	9

I.5.5. Matière organique	9
1.5.6. Texture et la structure du sol	9
1.5.7. Capacité d'échange cationique (CEC)	10
I.6. Plomb	10
I.6.1.Généralité sur le plomb	10
I.6.2. Propriétés physico-chimiques du plomb	10
I.6.3. Isotopes de plomb	10
I.6.4. Utilisation du plomb	11
I.7. Origines de la pollution par le plomb	11
I.7. 1.Sources anthropique du plomb	12
I.8. Plomb dans le sol	13
I.8.1. Biodisponibilité du plomb	14
I.9. Effets du plomb	15
I.9.1. Effets sur les végétaux	15
I.9.2. Effets sur la germination et la croissance	15
I.9.3. Effet sur la Photosynthèse	16
I.9.4. Effets sur la nutrition minérale	16
I.9.5. Effets toxiques chez l'homme	17

Chapitre II : Phytoremediation

II.1. Nécessité de la dépollution	19
II.2. Généralité sur la phytoremédiation	19
II.3.Définition de la phytoremédiation	20
II.4. Techniques de la phytoremédiation	20
II.4.1. Phytodégradation	21
II.4.2. Phytostabilisation	22
II.4.3. Phytoextraction	22

II.4.4. La Phytovolatilisation	24
II.3.5. Rhizofiltration	24
II.4. Implantation d'espèces tolérantes (Pourquoi restaurer le couvert végétal ?	24
II.5. Avantages et limites de la phytoremédiation	25
II.5.1. Avantages	25
II.5.2. Limites	26

Chapitre III : Espèce végétale expérimentée

III.1. Systématique	27
III.2. Genre Cléome	27
III.3. Description de Cléome amblyocarpa Barr. & Murb	28
III.6. Propriétés biologique	29
III.6.2. Usage ethnobotanique	29
III.6.3. Activités biologiques	29

Chapitre IV : Germination

IV. Germination.....	31
IV.1. Définition de la germination.....	31
IV .2. Morphologie et physiologie de la germination.....	32
IV.2.1. Morphologie de la germination.....	32
IV.2.2. Physiologie de la germination.....	32
IV .3. Phases de germination.....	32
IV .4. Conditions de la germination.....	33
IV.4.1. Condition interne de la germination.....	33
IV.4.1.1 viabilité de graines.....	33
IV.4.1.2 Maturité physique.....	33
IV.4.1.3 La maturité physiologique.....	34
IV.4.2. Condition externe de la germination.....	34
IV. 5. Conditions de stockage des graines.....	35

IV.6. Différents obstacles de la germination	35
IV.6 .1. Inhibiteurs tégumentaires	35
IV.6.1.1. Imperméabilité à l'eau	35
IV.6.1.2. Imperméabilité à l'oxygène.....	35
IV.6. 2. Dormance embryonnaire.....	37

Partie Expérimentale

Chapitre V : Matériel et méthodes

V.1. Objectif	38
V.2. Site d'étude : Site expérimental	38
V.3. Matériel végétal	39
V.4. Protocole expérimental	40
V.4.1. Traitement des graines	40
V.5. Mise en germination	41
V.6. Préparation de solution	42
V.7. Paramètres analysés	43
V.7.1.Taux de germination final.....	43
V.7.2. Cinétique de germination	43
V.7.3. Longueur des radicules et des tigelles	43
V.7.4.Indice de tolérance (I.T.).....	43
V.7.5. Pourcentage de phytotoxicité (P.P.).....	43
V.7.6. Analyse statistique.....	43

Chapitre VI : Résultats et discussion

VI. 1. Effet du plomb sur le taux de germination des graines de <i>Cleome amblyocarpa</i> Barr. &Murb.....	44
VI.2. Effet du plomb sur la cinétique de germination des graines de <i>Cleome amblyocarpa</i> Barr. &Murb.....	44
VI.3. Effet du plomb sur le taux de germination relatif (TGR)	45

VI.4. Effet du plomb sur la longueur des racines des plantules de Cleome amblyocarpa Barr. &Murb.....	46
VI.5. Effet du plomb sur la longueur des tiges de Cléomé amblyocarpa	47
VI.6. Effet du plomb sur le rapport racines/tiges de Cleome amblyocarpa	47
VI.7. Effet du plomb sur l'indice de tolérance (I.T) de Cleome amblyocarpa.....	48
VI.8. Effet du plomb sur le pourcentage de phytotoxicité (P.P) du Cléome amblyocarpa.....	48
VI.9. Discussion generale.....	50
Conclusion.....	54
Références.....	56
Annexes	

Introduction

Introduction :

Depuis une trentaine d'années, du fait de l'évolution et de la diversification des sources, la pollution est devenue de plus en plus complexe, constituant maintenant un véritable «cocktail» de polluants dont les effets sont difficiles à caractériser (**Cuny, 2012**).

Le sol est un élément essentiel du système écologique et la base de la survie et du développement de l'homme. De nombreux éléments de métaux lourds existent naturellement dans les sols, mais les activités anthropiques, telles que la production agricole, le transport et la fabrication industrielle, peuvent favoriser la pollution par les métaux lourds (**Facchinelli et al., 2001**). Ces activités rejettent des éléments de métaux lourds dans l'environnement par le biais des eaux usées, des gaz résiduels et des déchets solides, et la plupart des éléments de métaux lourds s'accumulent dans le sol (**Chaffai et al., 2011**). Les métaux lourds présents dans les sols contaminés détruisent les écoservices et finissent par nuire à la santé humaine tout au long de la chaîne alimentaire (**Jaishankar et al., 2014**).

Plusieurs techniques d'assainissement physiques, chimiques et biologiques (in situ et ex-situ) sont disponibles pour nettoyer les sols contaminés par des métaux lourds mais la phytoremédiation est la technique la plus durable (économique et écologique) parmi celles-ci et possède un grand potentiel pour nettoyer les sols contaminés par les métaux lourds sans montrer d'impact négatif sur les propriétés du sol (**Shah et al., 2020**).

Le plomb est un métal lourd de densité élevée, il provient de combustions, de certains procédés industriels, de l'incinération des déchets. Il peut s'accumuler dans l'organisme et les effets sont variables; atteintes du système nerveux, des fonctions rénales, hépatiques, etc. le plomb entraîne des effets néfastes sur les plantes, il inhibe la photosynthèse et la nutrition minérale...etc. Leur dépôt sur les surfaces (sols, eaux, etc.) conduit également à une contamination de la chaîne alimentaire (**Elichegaray et al., 2010**).

Dans les dernières années, les scientifiques s'intéressent aux plantes susceptibles de contribuer à la décontamination des sols pollués par la phytoremédiation, qui est certes une stratégie à long terme, mais elle peut devenir efficace, peu coûteuse et qui consiste à l'utilisation des espèces capables de croître sur des sols à forte teneur en métaux lourds et susceptibles d'en mobiliser ou absorber une quantité appréciable du polluant, tout en produisant une biomasse importante et un système racinaire bien développé et surtout une capacité de translocation des polluants vers les parties aériennes récoltables. Dans ce sens nous avons choisi *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb, une espèce représentative de l'écosystème Saharien Algérien, est une plante herbacée annuelle de la famille des

caparidaceae. Spontanée qui s'adapte aux conditions climatiques et édaphiques de l'environnement désertique.

Munis de ces outils, nous allons chercher à répondre à la problématique suivante : Ce travail de recherche permettra de se prononcer sur la capacité de cette plante de tolérer la pollution par le plomb, et de la considérer comme une espèce végétale phytoremédiatrice ?

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet du stress provoqué par le plomb à des différentes concentrations, sur la phase germinative de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb, et l'évaluation de plusieurs paramètres ont été étudiés sur la germination des graines et le développement des plantules, sur une durée d'exposition de deux semaines.

Ce mémoire est rédigé de la façon suivante :

- La partie synthèse bibliographique : retrace les métaux lourds, les effets du plomb et renferme aussi des notions sur la phytoremédiation, la germination et des données générales sur l'espèce étudiée.
- La partie expérimentale : présente matériel et méthodes où sont décrits le matériel végétal utilisé, le protocole expérimental et les différents paramètres analysés.
- La partie résultats et discussions : les différents résultats obtenus sont interprétés, analysés statistiquement et discutés.
- Le mémoire est terminé par une conclusion et les perspectives.

Synthèse
bibliographique

I. Métaux lourds :

I.1. Généralités sur les métaux lourds :

La contamination des sols agricoles par les métaux lourds tels que le plomb (Pb), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu) et le zinc (Zn) est de nos jours une question de santé publique et de conservation de l'environnement. Ces métaux sont présents dans les sols à la suite des activités géo-génétiques (**Baize, 1997**) ou anthropiques telles que le raffinage, la combustion de combustibles fossiles, l'application d'engrais phosphatés, et des boues d'épuration aux sols (**Kabata-Pendias, 2001**). Les métaux ne sont pas biodégradables et donc peuvent persister dans le sol pendant de longues périodes. Le Zn, Cu et Pb sont toxiques pour les végétaux et les animaux y compris l'homme (**Kabata-Pendias, 2001**).

I.2. Définition :

Le terme métaux lourds est arbitraire et imprécis. Il est utilisé pour des raisons de simplicité et il recouvre des éléments ayant des propriétés métalliques (ductilité, conductivité, densité, stabilité des cations, spécificité de ligand...) et un numéro atomique supérieur à 20 (**Raskin et al., 1994**). Les métaux lourds sont définis comme étant des éléments chimiques toxiques ayant une densité supérieure à 5 g/cm³ (**Elmsley, 2001**).

On distingue deux types en fonction de leurs effets physiologiques et toxique: métaux essentiels et métaux toxiques.

- **Métaux essentiels** sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques (**Loué, 1993**). Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du fer (Fe) (**Kabata et Pendias, 2005**).
- **Métaux toxiques** ont un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg), du cadmium (Cd). (**Huynh, 2009**).

Tableau 1 : Caractères d'essentialité et de toxicité de quelques éléments traces. (**Garnaud et al., 2001**)

Élément	Indispensables FC			Toxic FC			Commentaires
	Plantes	Animaux	Hommes	Plantes	Animaux	Hommes	
Cadmium	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Phytotoxique
Chrome	Non	Non	Non	Oui	Non	Oui	Toxiques
Cuivre	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Immobile dans le sol, peu toxique
Fer	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Phytotoxique à pH acide
Plomb	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Peu phytotoxique
Zinc	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Peu toxique

FC : faible concentration.

I.3. Origines des métaux présents dans le sol :

Le problème principal avec les métaux lourds comme le plomb, le cadmium, le cuivre et le mercure est qu'ils ne peuvent pas être biodégradés, et donc persistent pendant de longues périodes dans des sols. Leur présence dans les sols peut être naturelle ou anthropogénique (**Miquel, 2001**). La distribution dans l'environnement procède de deux origines :

L'une, naturelle est le résultat de processus géogéniques comme l'érosion, les précipitations géochimiques de roches et de l'eau de source, l'activité volcanique et bactérienne, et l'autre, relève des activités anthropogéniques tel que les activités industrielles, les fertilisants et les pesticides, ... etc (voir figure1) (**Baize et Sterckeman, 2001**).

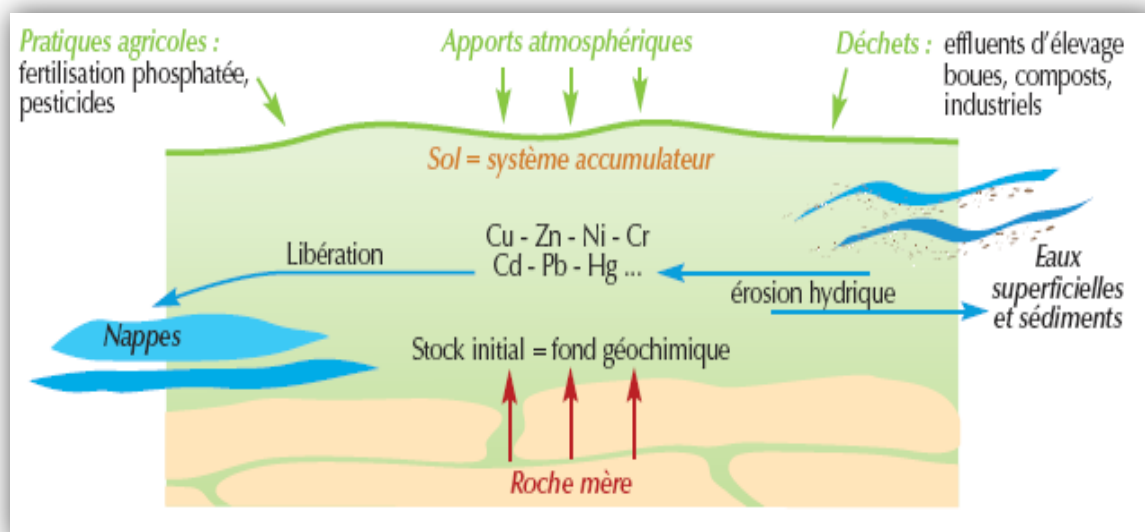


Fig. 1 : Origine et distribution des éléments traces (**Robert et Juste, 1997**).

1.3.1. Sources naturelles :

Les métaux lourds sont présents naturellement dans les roches, ils sont libérés lors de l'altération de celles-ci pour constituer le fond géochimique. La concentration naturelle des métaux lourds dans les sols varie selon la nature de la roche, sa localisation et son âge. (Bourrelier et Berthelin, 1998).

1.3.2. Sources anthropiques :

Les teneurs les plus élevées en éléments inorganiques rencontrées dans les sols sont fortement liées à l'activité humaine. Les principales activités sont les suivantes: (Alloway, 1995).

- Pratiques agricoles due aux épandages d'insecticides, de fongicides, d'engrais, de boues résiduaires urbaines ou de composts d'ordures ménagères,... etc.
- Pollution dues aux retombées atmosphériques telle que l'industrie extractive et métallurgique, pratiques liées à l'incération, utilisation des énergies fossiles, essence au plomb, etc.
- Stockage de déchets urbains ou industriels dues aux résidus des activités de mines et de fonderies de métaux, installations de stockage de déchets,... etc . (Alloway, 1995).

Tableau 2: Liste non exhaustive de la provenance des métaux lourds et métalloïdes dans l'environnement (Sparks, 1998).

Elément	Sources
As	Sous-produit minier, pesticides, déchets chimiques, préservateur de bois
Cd	Extraction et fonderie du plomb et du zinc, décharges industrielles, déchets miniers
Cr	Additif des eaux de refroidissement
Cu	Déchets domestiques et industriels, mine, lixiviation de minéraux
Hg	Déchets industriels, mines, pesticides, charbon
Ni	Sources géologiques naturelles, industrie, mine
Pb	Industrie, mines, plomberie, charbon, essence
Se	Sources géologiques naturelles, charbon
Zn	Déchets industriels, plomberie

I.4. Spéciation, mobilité et biodisponibilité des métaux lourds :

1.4.1. Spéciation:

La spéciation est définie comme la distribution des espèces chimiques d'un élément au sein d'un système, solide ou liquide (Ponthieu *et al.*, 2016).

Ces espèces sont différenciées selon leur composition isotopique, leur structure électronique, leur état d'oxydation, et/ou leur structure moléculaire.

Cependant, le terme de spéciation d'un élément dans un sol est souvent utilisé dans un sens plus large englobant la distribution ou les processus d'identification des différentes phases d'un élément dans le milieu solide ou liquide (Foreau, 2009).

Les ions métalliques libres et les espèces neutres, sont les formes les plus réactives, car plus facilement assimilables par les organismes vivants (Baba Ahmed, 2012).

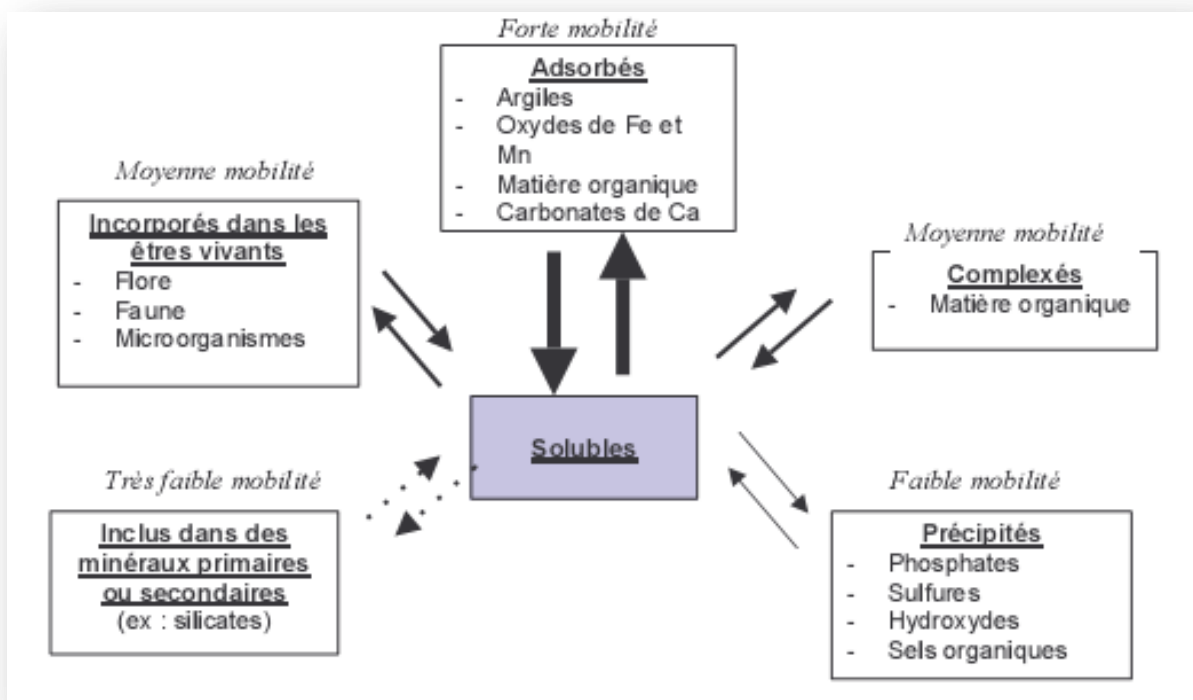


Fig. 2 : Localisation (spéciation) des éléments en traces métalliques (ETM) dans le sol (Prassad, 2004).

1.4.2. Mobilité:

La forme chimique des ETM affecte leur mobilité dans les sols et leur capacité de transfert dans les différents compartiments environnementaux. La mobilité correspond à l'aptitude d'un élément à passer d'un compartiment du sol où il est retenu avec une certaine

énergie vers un autre compartiment où il est retenu avec une énergie moindre (Anju *et al.*, 2012).

Elle peut être étudiée au travers du changement de phase porteuse d'un élément, à l'échelle d'un sol, la mobilité d'un élément peut être évaluée en étudiant sa distribution verticale ou latérale (Bissou *et al.*, 2012).

1.4.3. Biodisponibilité:

La notion de biodisponibilité des ETM est définie par le passage d'un élément au travers d'une membrane biologique, végétale ou animale (Dubal, 2004). Elle dépend d'une part, de la fraction de l'élément qui peut être mobilisée physicochimiques dans le sol et d'autre part, de la capacité d'une espèce donnée à l'absorber (Girard *et al.*, 2011).

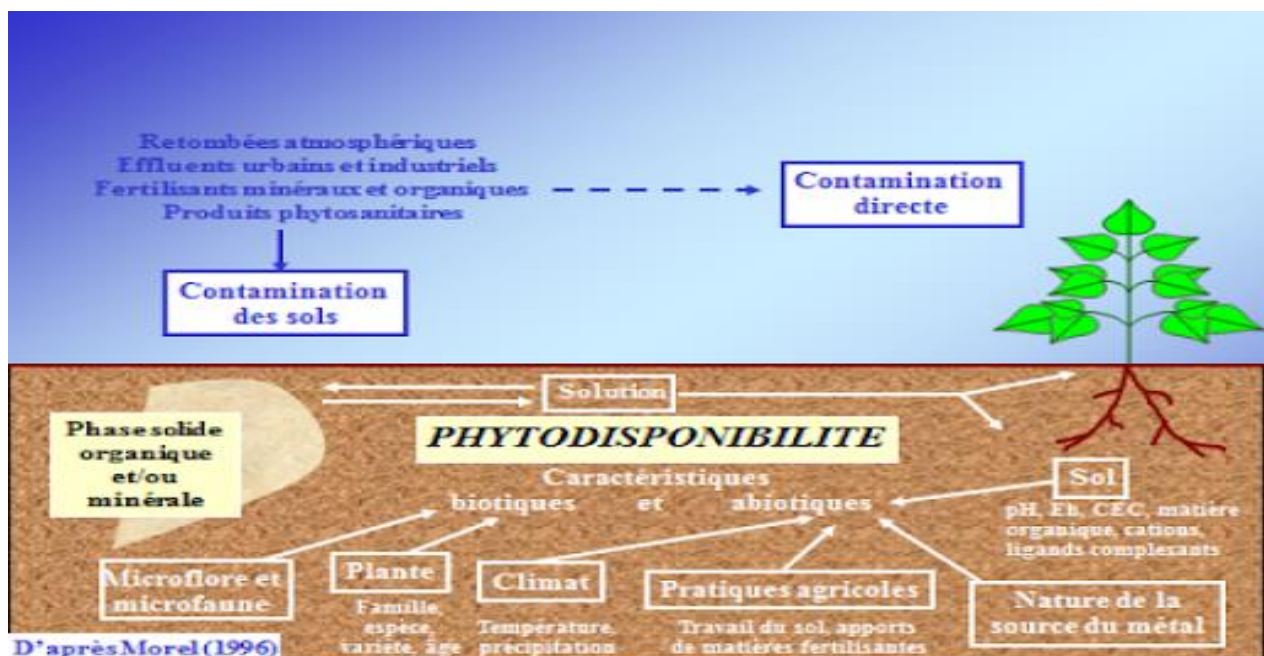


Fig. 3 : pollution des sols et phytodisponibilité (Morel, 1996).

I.5. Facteurs modifiant la mobilité des métaux lourds :

I.5.1. Potentiel hydrogène (pH) :

À pH faible, la solubilité de la plupart des métaux est plus élevée (Alloway, 1995).

I.5.2. Potentiel redox (Eh) :

En conditions réduites, la mobilité des métaux lourds est plus faible. Le potentiel redox est fortement lié au pH puisqu'il augmente quand celui-ci diminue (Alloway, 1995).

I.5.3. Activité biologique :

La compréhension globale des phénomènes biologiques jouant sur la solubilité des métaux lourds dans les sols est rendue difficile par la multiplicité des actions et interactions à tous les niveaux. Les végétaux supérieurs étant au centre de notre étude, et les microorganismes ayant une influence sur l'ensemble du milieu aux échelles de temps et d'espace considérées, nous attacherons à développer principalement l'action des microorganismes et des plantes. Les principaux phénomènes d'action sur la mobilité des polluants métalliques sont la solubilisation, l'insolubilisation et la volatilisation (**Deneux-Mustinet al., 2003**).

a- Solubilisation :

Provient de la production de composés acides tels que les acides carboxyliques, phénoliques, aliphatiques, nitrique et sulfurique. Certaines bactéries chimiolithotrophes (*Thiobacillus*, *Leptospirillum*, *Galionella*) oxydent les formes réduites du fer et du soufre contenues dans les sulfures et produisent de l'acide sulfurique, susceptible de dissoudre les silicates, les phosphates, les oxydes et les sulfures, libérant ainsi les métaux lourds contenus. Les champignons et les racines des plantes excrètent eux aussi des acides afin d'augmenter leur absorption de nutriments, ou tout simplement comme déchets métaboliques (**Foy et al., 1978 ; Chaignon, 2001 ; Deneux-Mustinet al., 2003**).

b- Insolubilisation

Constitue le phénomène opposé. Bien que le phénomène de détoxification externe des métaux lourds par des exsudats racinaires n'ait jamais été démontré (**Baker et Walker, 1990**), certains acides organiques de faible masse moléculaire, comme les acides oxalique, citrique ou fumarique qui interviennent dans la complexation intracellulaire d'éléments nutritifs, peuvent être sécrétés dans le milieu extérieur. Ils limiteraient ainsi les transferts par des processus de complexation (**Baker et Walker, 1990**).

c- Volatilisation :

Repose sur l'action directe de certains microorganismes sur le degré d'oxydation de l'espèce métallique. C'est le cas du mercure, de l'arsenic et du sélénium (Se). La biométhylation permet le transfert de groupements méthyl directement aux atomes, Pb, Sn (étain), As, Sb (antimoine) et Se, permettant leur volatilisation dans l'atmosphère. (**Baker et Walker, 1990**).

I.5.4. Température :

La température du sol dépend en premier lieu du climat, mais elle est également liée à l'activité biologique et influence rétroactivement la formation de complexes avec des ligands inorganiques, en modifiant l'activité de l'élément en solution. La température a un impact direct sur la mobilité des éléments métalliques en déplaçant les équilibres des réactions de dissolution-précipitation et Co-précipitation, et un impact indirect, en modifiant la teneur en eau du sol, le pH ou le potentiel redox (Eh). (**Deneux-Mustin, 2003**).

I.5.5. Matière organique :

Elle se compose de deux fractions:

- ✓ La fraction vivante (micro-organisme, faune épilithique, rhizosphère des végétaux supérieurs, animaux fousseurs). Son influence sur la fixation des éléments trace est importante, elle modifie le potentiel redox ou le pH.(**Kabata-Pendias, 2001**).
- ✓ La fraction morte (débris végétaux et animaux plus ou moins décomposés en humus, carbone rapporté). (**Kabata-Pendias, 2001**).

1.5.6. Texture et la structure du sol :

La texture et la structure du sol sont des facteurs intervenant dans la mobilité des ETM. Dans un sol structuré, la vitesse de l'eau et des composés solubles est plus grande que dans une matrice constituée de micropores. Le transport par les colloïdes du sol (particules d'argile, matière organique soluble, biomasse) peut augmenter la mobilité des métaux associés à ces solides. Les pratiques culturales peuvent influencer la mobilité des métaux en modifiant les propriétés du sol et les conditions physico-chimiques, à la suite par exemple de l'apport de matière organique (boues chaulées ou non, composts, déjections animales, déchets divers) (**AFNOR, 2003**). La nature et le mode d'application des fertilisants, la rotation des cultures et le labour jouent aussi un rôle important. L'oxygène étant l'anion structural dominant, aussi bien dans l'eau que dans les constituants solides du sol, la spéciation des ETM est dominée par leur interaction avec l'oxygène des molécules d'eau, des anions hydroxyde OH⁻ ou oxyde O²⁻. Ainsi, plus un sol est aéré, moins le Cd est biodisponible. Or, le travail du sol entraîne alors une meilleure aération du sol ; inversement, le passage répété d'engins agricoles qui tassent le sol la réduit. Le degré d'aération du sol est aussi déterminé par les pratiques culturales (irrigation, apport de matière organique biodégradable donc consommatrice d'oxygène mais qui peut aussi améliorer l'aération du sol grâce à une meilleure structuration)

et par les événements climatiques (précipitations massives entraînant une réduction de l'aération du sol) (Morel, 1997).

1.5.7. Capacité d'échange cationique (CEC) :

Caractérise la capacité d'un sol à stocker et à restituer les éléments minéraux : les particules fines d'argile, à forte CEC, sont chargées négativement et adsorbent donc les particules de charges opposées. De ce fait, les cations métalliques peuvent se fixer à la surface des particules d'argile par échange de protons H^+ , entraînant une baisse de leur disponibilité (Alloway, 1995).

I.6. Plomb :

I.6.1. Généralité sur le plomb :

Le plomb est un métal gris-bleu grisant à l'air humide, facilement malléable et qui résiste à la corrosion. Sa présence dans la croûte terrestre est ubiquitaire (entre 15 mg/kg et 20 mg/kg). Il y est relativement accessible bien qu'il y soit peu présent sous sa forme métallique (Pb⁰). En effet, parmi ses trois états d'oxydation, le Pb(II) est le plus fréquent, le Pb (IV) étant presque inexistant sous des conditions normales. Le plomb métallique n'est pas soluble dans l'eau, mais plusieurs de ses composés le sont tels le bromure et le chlorure de plomb ainsi que le nitrate de plomb (ATSDR, 2007).

I.6.2. Propriétés physico-chimiques du plomb :

Le plomb est un métal dense ($d=11,34$ à $20^{\circ}C$), de couleur bleu-gris argenté qui se trouve sur la croûte terrestre en petites quantités (0.002%). Il se trouve associé à plusieurs minerais (plus de 200 minerais de plomb) seulement les plus communes sont : la galène (PbS), la cérussite (PbCO₃) et l'anglésite (PbSO₄) (Adriano, 2001).

Le plomb métallique est malléable, il forme divers alliages fusibles, il est peu soluble dans l'eau froide, l'eau chaude et les acides dilués, mais il se dissout facilement dans les acides forts. L'eau chargée d'oxygène dissous attaque par contre le plomb, et produit l'hydroxyde de plomb Pb(OH)₂ qui est très toxique (OMS, 1978).

Le plomb est classé parmi les métaux lourds et se caractérise selon Cecchi, (2008) par :

- Une forte affinité au soufre.
- Il ne se détruit pas, il se transporte et change de forme en donnant des sels.
- Il a une conductivité élevée, ce qui explique son utilisation dans de nombreuses industries.

- Il présente une certaine toxicité entraînant des lésions plus ou moins graves.

Tableau 3 : Propriétés physico-chimique du plomb. (Cecchi, 2008).

Symbole	N°atomique	Poids atomique	Densité	Points de fusion	Point d'ébullition
Pb	82	207,2	11,34	327,43 °C	1740 °C

I.6.3. Isotopes de plomb :

Le plomb est un métal gris bleuâtre malléable. Il en existe quatre isotopes naturels ^{204}Pb , ^{206}Pb , ^{207}Pb et ^{208}Pb . Les principaux minerais sont la galène (sulfure), la cérusite (carbonate) et l'anglésite (sulfate). Le plomb élémentaire a une faible conductivité électrique et sa masse élevée lui confère un important pouvoir d'absorption des rayonnements X, et électromagnétiques (Garnier, 2005).

I.6.4. Utilisation du plomb :

Le plomb est un métal largement utilisé dans les batteries de voiture au plomb, sous forme de tôles plombées dans le secteur de la construction, dans le plastique PVC, dans les munitions, dans le cristal et la céramique, dans les ceintures de lest pour la plongée, dans les plombs pour la pêche, sous forme d'écran contre les radiations, etc. Auparavant, le plomb était utilisé comme pigment dans les peintures et comme antidétonant dans l'essence. Ces utilisations sont interdites dans l'Union européenne depuis les années 1990. (BRGM, 2003).

L'utilisation passée du plomb dans l'essence et les émissions historiques par les producteurs de métaux non-ferreux a entraîné une augmentation des concentrations de plomb dans le sol, l'eau et l'air. Le plomb étant fortement lié aux caractéristiques du sol, son absorption racinaire est très faible et la majeure partie du plomb présent dans les parties des plantes situées hors du sol provient de dépôts atmosphériques de plomb (BRGM, 2004).

I.7. Origines de la pollution par le plomb :

Le plomb retrouvé dans l'environnement provient à la fois de sources naturelles et anthropiques. Le métal est présent dans le sol, eau et air (Nriagu, 1978; Baize, 2002).

Le plomb est naturellement présent en moyenne à 0,002% dans la croûte terrestre (36ème élément de la croûte terrestre), généralement sous forme peu soluble.

Des dérivés inorganiques sont présents dans les eaux, les sédiments, les sols, l'atmosphère et éventuellement en micro-traces chez les organismes vivants. Les sols non contaminés contiendraient de 10 à 30 mg.kg⁻¹ (Nriagu, 1978; Baize, 2002). A l'état naturel, le Pb se retrouve dans l'environnement sous forme de galène (sulfure de Pb), de cérusite

(carbonate de Pb), et d'anglésite (sulfate de Pb). La forme la plus abondante est la galène, la cérusite et l'anglésite apparaissent lors de l'oxydation de la galène (**Brunet, 2008**).

Dans l'air, les émissions de plomb provenant de poussières volcaniques véhiculées par le vent sont reconnues d'importance mineure (**Pichard, 2003**), la majorité du plomb contenue dans l'air ambiante provient de la combustion de l'essence plombée, en milieu urbain environ 90% du plomb est émis dans l'atmosphère par le gaz d'échappement mais la pollution de l'air par le Pb a considérablement diminué depuis l'arrêt des essences plombées. (**Brunet, 2008**).

A ce jour, les principales sources de contaminations en Pb sont les rejets anthropiques. Ils proviennent principalement des industries qui extraient et purifient le Pb naturel et qui recyclent les composants contenant du Pb comme les batteries et leurs retombées atmosphériques contaminent les sols. A ceci s'ajoute les déchets industriels et la détérioration des peintures extérieures à base de Pb. Des rejets provenant des industries sidérurgiques ainsi que les réseaux de canalisations de distribution d'eau anciennes, contenant du Pb, contaminent les eaux (**Pichard, 2003**).

I.7. 1.Sources anthropiques de plomb

Les principales sources de contaminations en Pb sont les rejets anthropiques (figure 04), Ils proviennent principalement des industries qui extraient et purifient le Pb naturel et qui recyclent les composants contenant du Pb comme les batteries, et leurs retombées atmosphériques contaminent les sols. A ceci s'ajoute les déchets industriels et la détérioration des peintures extérieures à base de Pb. Des rejets provenant des industries sidérurgiques ainsi que les réseaux de canalisations de distribution d'eau anciennes, contenant du Pb, contaminent les eaux (**Jeannot, 2001**). Dans les sols des concentrations en Pb supérieures à 110 ppm de sol traduisent l'existence d'une source polluante à proximité (**Juste et al., 1995**).

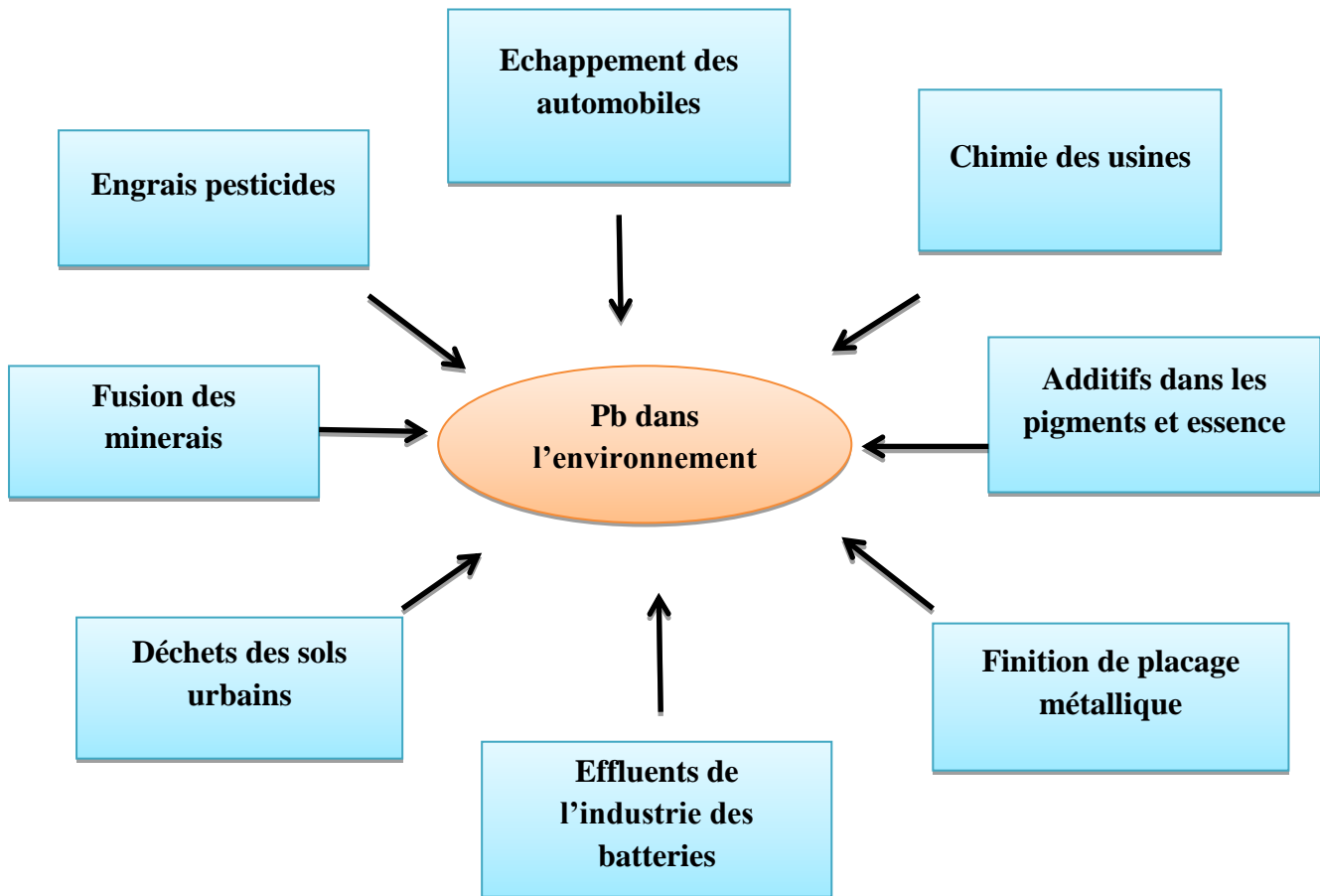


Fig. 4 : Sources anthropiques de la pollution en plomb (Sharma et Dubey, 2005).

Les apports anthropiques de Pb résultent de cinq groupes d'activités (Baize, 1997) :

- ✓ Les sources principales sont liées à l'utilisation de composés organométalliques comme antidétonants dans les moteurs à explosion. Le métal est alors rejeté par les gaz d'échappement.
- ✓ Les sources industrielles : libération de Pb par les usines de traitement du minerai ou lors de recyclage des batteries.
- ✓ Les déblais des mines et les poussières des crassiers.
- ✓ Les boues de stations d'épuration.
- ✓ Certains pesticides étaient fabriqués à base de Pb.

I.8. Plomb dans le sol

Le comportement du plomb dans un sol dépend de différents facteurs comme sa dynamique propre mais également des caractéristiques pédologiques et physicochimiques du sol (Baize, 1997). Il peut être soit sous forme liée aux particules de terre soit dans la phase

aqueuse. Dans les sols contaminés, la forme chimique initiale et la teneur en polluant apportée ont également une influence (**Hinsinger, 1996, Dumat et al., 2001 ; Ferrand et al., 2006**).

Le plomb va ainsi se retrouver :

- Inclus dans des minéraux primaires hérités de la roche-mère ou dans des minéraux secondaires suite à des précipitations ou co-précipitations notamment avec des oxydes (Fe, Al, Mn) (**BRGM, 2004**).
- Adsorbé à la surface de la matière organique du sol (**BRGM, 2004**).
- Adsorbé à la surface des méso et microorganisme du sol ou absorbé par eux (**BRGM, 2004**).
- Dans la solution du sol, associé à des colloïdes (**BRGM, 2004**).
- Dans la solution du sol, complexé par des molécules organiques ou sous forme libre. Les principales espèces du plomb présentes dans la solution du sol sont Pb^{2+} et $PbCO_3$ (**BRGM, 2004**). Ces formes solubles, bien que très minoritaires, ont un rôle fondamental, puisque les racines prélèvent uniquement le plomb dans la solution du sol (**Bourellier and Berthelin, 1998**).

I.8.1. Biodisponibilité du plomb

L'absorption racinaire du Pb est actuellement considérée comme passive. Elle est réduite par le chaulage et les basses températures. Bien que le Pb soit dans le sol un élément très peu soluble, il peut s'accumuler dans les racines et particulièrement dans les membranes cellulaires. En règle générale, les concentrations en Pb d'une plante sont étroitement corrélées aux concentrations en Pb du sol, mais cette corrélation doit être nuancée et tenir compte en particulier de l'organe (racines, tiges, feuilles, etc.). La translocation de Pb vers les parties épigées d'une plante est un phénomène très limité. Ce qui fait que le Pb n'est pas un toxique systématique en ce sens qu'il ne diffuse pas dans le système vasculaire de la plante, son absorption racinaire n'est effective qu'au-delà de 1000ppm dans le sol, elle dépend entre autres facteurs de la concentration totale dans le sol, de la concentration dans la solution du sol et de la spéciation (**Afnor, 1996**). La plante peut également absorber le Pb par les feuilles, Le maximum "normal" dans les plantes, selon **Mckenzie** est de 8ppm.

I.9. Effets du plomb :

I.9.1. Effets sur les végétaux :

La toxicité du plomb dépend de sa concentration dans le milieu, de sa spéciation, des propriétés du sol, et enfin de l'espèce végétale concernée. Les plantes mettent en place diverses barrières physiques pour se protéger, quand le plomb a réussi à passer à travers ces barrières de protection, il peut affecter de nombreux processus physiologiques de la plante. Les premiers effets ne provoquent pas de symptômes visibles, ceux-ci ne se manifestant qu'en cas de toxicité avancée (Cecchi, 2008).

La croissance, Celle-ci s'accompagne très souvent de nombreux autres indices de dysfonctionnement : chlorose foliaire, importantes lésions nécrotiques, jaunissement progressif, repliement ou dessèchement du feuillage, les bases moléculaires de ces perturbations sont encore mal connues, mais on admet généralement qu'elles résultent d'un stress oxydatif, dû à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou « Réactive Oxygen Species » (ROS). Qui altèrent toute une série de substrats biologiques importants, et modifient les domaines fonctionnels des biomolécules pouvant conduire à la mort cellulaire (Cheng *et al.*, 2003).

I.9.2. Effets sur la germination et la croissance

A l'échelle macroscopique, le plomb entraîne des effets néfastes sur les plantes. En premier lieu, la germination est fortement inhibée par les ions plomb (Pb^{2+}) à très faibles concentrations (Mishra *et al.*, 1998; Tomulescu *et al.*, 2004). De plus fortes doses conduisent à une inhibition totale de la germination chez les espèces végétales, comme L'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) (Wierzbicka *et al.*, 1998). Le plomb réduit également fortement le développement de la plantule et des racelles (Mishra et Choudhuri, 1998). Un traitement à de faibles concentrations en plomb inhibe la croissance des racines et des parties aériennes (Makowski *et al.*, 2002 ; An, 2006). Cette inhibition est plus importante pour la racine, ce qui peut être corrélé à plus forte teneur en plomb de cette dernière. (Obroucheva *et al.*, 1998).

L'accroissement de biomasse végétale est diminué par de fortes doses de plomb (Xiong *et al.* 2006). Sur de longues durées, les traitements au plomb, même à des doses non-létales, peuvent conduire à l'apparition de nécroses au niveau des apex racinaires et des feuilles, ainsi que des chloroses foliaires (Liu *et al.*, 2000). L'ensemble des perturbations macroscopiques observées est la résultante :

- De l'interaction du plomb avec les différents composants cellulaires et les macromolécules (protéines, ADN...). (**Liu et al., 2000**).
- De la perturbation de nombreux processus physiologiques comme la régulation du statu hydrique, la nutrition minérale, la respiration ou la photosynthèse. (**Liu et al., 2000**).

I.9.3. Effet sur la Photosynthèse :

Chez les plantes, l'exposition au Pb conduit à une forte inhibition de la photosynthèse, du rendement photosynthétique, et à une limitation du taux d'assimilation de CO₂. Le rendement photosynthétique, très sensible, peut chuter de plus de 50% (**Bazzaz et al., 1975 ; Poskuta et al., 1987**). Cette inhibition s'explique par la diminution des teneurs en chlorophylle et en caroténoïdes généralement constatée (**Chen et al., 2007 ; Gopal et al., 2008**).

La chlorophylle b semble plus sensible que la chlorophylle a (**Wozny et al., 1995 ; Vodnik et al., 1999**). Toutefois, ces effets varient en fonction des espèces végétales. Les mécanismes de réduction de la teneur pigmentaire sont, en partie, élucidés. Le plomb induit l'activité chlorophyllase dans les feuilles (**Drazkiewicz, 1994**), mais le mécanisme principal semble être l'inactivation de la synthèse de ces pigments. Le plomb interagit à ce niveau de deux façons :

➤ D'une façon directe, en se substituant aux ions divalents liés aux métalloenzymes. C'est notamment le cas avec l'-aminolevulinatase ou ALAD qui est à la base de la synthèse des chlorophylles et dont l'ion zinc (Zn²⁺) est remplacé par plomb (Pb²⁺) (**Foy et al., 1978**).

➤ D'une façon indirecte, en induisant une carence en ces ions divalents (**Foy et al., 1978**).

I.9.4. Effets sur la nutrition minérale

Le plomb affecte la nutrition minérale, en perturbant le prélèvement et le transport des nutriments par la plante, tels que Ca, Fe, Mg, Mn, P et Zn en bloquant leur entrée ou en se liant à eux, les rendant indisponibles pour les plantes (**Xiong, 1997**). Il a été montré, chez plusieurs plantes exposées au Pb, une diminution dans les feuilles de la concentration en cations divalents comme le Zn²⁺, le Mn²⁺, le Ca²⁺ et le Fe²⁺ (**Seregin et al., 2004 ; Chatterjee., 2004 ; Kopyitke et al., 2007 ; Cecchi, 2008**). Cette diminution pourrait être due à une compétition entre le Pb et certains ions de taille équivalente au niveau des transporteurs

membranaires. En effet, le Pb, qui a quasiment le même rayon que le K⁺, pourrait emprunter les canaux potassiques pour entrer dans la cellule (**Sharma et Dubey, 2005**).

Le plomb affecte aussi le métabolisme azoté en diminuant le prélèvement de nitrate et en perturbant le fonctionnement de la nitrate réductase (**Seregin et Ivanov 2001; Cecchi, 2008**).

I.9.5. Effets toxiques chez l'homme

Le plomb se diffuse rapidement vers les différents organes comme le cerveau, les dents, les os, par la circulation sanguine. La demi-vie du plomb dans les tissus mous et dans le sang est de 30 jours environ, mais elle passe de 1 à 10 ans dans les os (**Pichard, 2002**).

En général, le plomb dans le corps humain se répartit selon (**Pichard, 2002**) comme suit :

- 1 à 2 % dans le sang
- 5 à 10 % dans les tissus mous (rein, foie, rate)
- Plus de 90 % est fixé sur les os

L'élimination du plomb se fait majoritairement par les urines, puis par les fèces, la salive et la sueur, et enfin par les ongles et les cheveux. (**Pichard, 2002**).

Le plomb a de nombreux effets toxiques sur la santé, qui sont basés sur les niveaux de plomb dans le sang ou plombémie sanguine. En effet, il est responsable du saturnisme en cas d'exposition chronique. Il peut provoquer une grande fatigue, des troubles du comportement, de la mémoire, du sommeil, des systèmes immunitaires et reproducteurs, mais ses principaux organes cibles sont le système nerveux, les reins et le sang. En bloquant plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hémoglobine, il entraîne une diminution du nombre de globules rouges et une anémie. De plus, le plomb passe facilement la barrière placentaire par diffusion, d'où un risque d'exposition prénatale (**Aoumeur, 2011**).

Tableau 4 : Concentrations en métaux et métalloïdes définissant les limites de qualité d'une eau potable (Législation Algérienne, Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (Décret exécutif n°14-96 du 2 Jomada El Oula 1435 correspondant au 4 mars 2014 modifiant et complétant le décret exécutif n° 11-125 du 17 Rabie Ethani 1432 correspondant au 22 mars 2011 relatif à la qualité de l'eau de consommation humaine).

Elément	Décret n° 14-96	Recommandations OMS
Arsenic	10 µg/l	10 µg/l
Cadmium	3,0 µg/l	3,0 µg/l
Chrome total	50 µg/l	50 µg/l
Cuivre	2,0 mg/l	2,0 mg/l
Mercure	6,0µg/l (mercure total)	1,0 µg/l (mercure total)
Nickel	70 µg/l	20 µg/l
Plomb	10 µg/l	10 µg/l
Sélénium	10 µg/l	10 µg/l
Zinc	5 mg/l	Non précisé Pas d'effets néfastes sur la santé observés pour les teneurs généralement mesurées dans l'eau destinée à la consommation

II. Phytoremédiation

II.1. Nécessité de la dépollution

Les risques écotoxicologiques de la contamination par les métaux lourds dans les sols, les ruisseaux et les eaux souterraines sont un grand problème de l'environnement et la santé humaine. Recourir à des techniques industrielles peut être utilisé efficacement pour nettoyer des sols contaminés mais la plupart de ces techniques exigent une technologie performante et sont par conséquent seulement chères et convenables pour des petites régions pollués (Moffat, 1995). Ces dernières années, le développement de techniques efficaces pour décontaminer les sites pollués est devenu indispensable. L'une d'elles la phytoremédiation, exploite les propriétés de certaines plantes à accumuler de grandes quantités de métaux lourds (Prabha *et al.*, 2007).

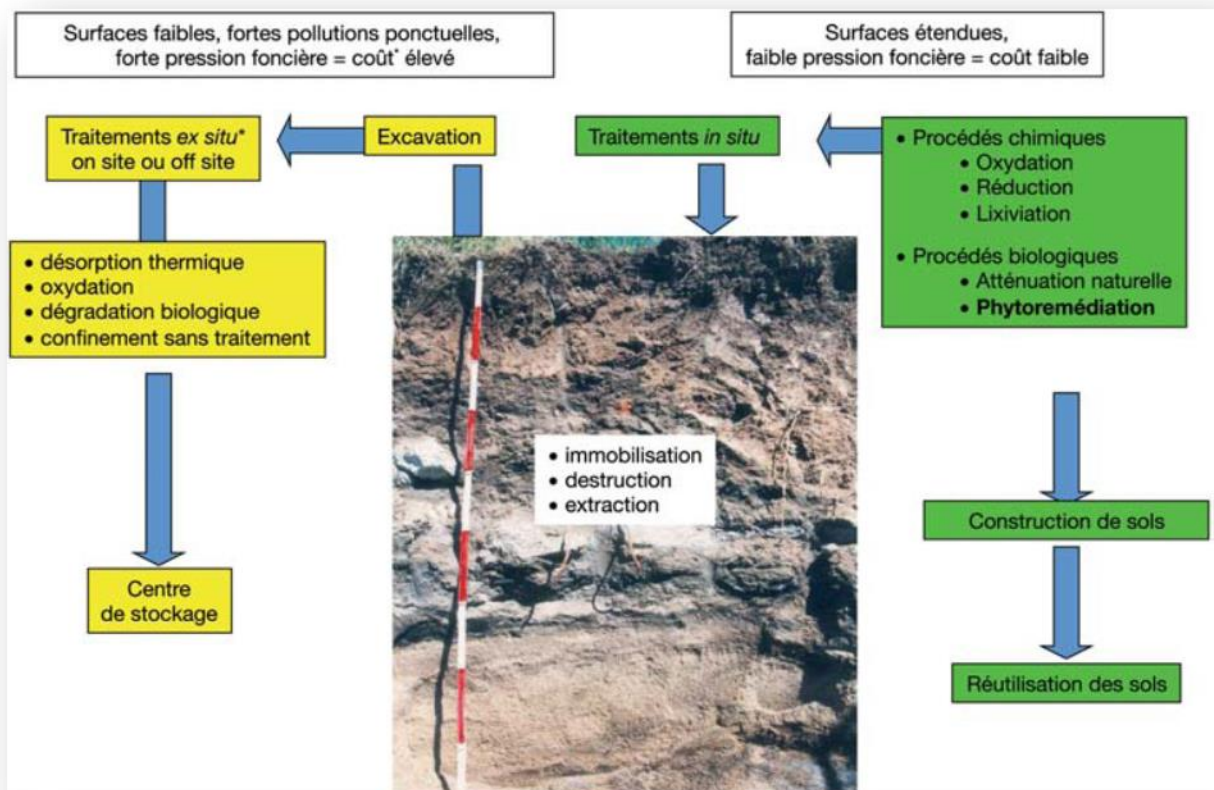


Fig .5 : Les différentes stratégies de remédiation des sols pollués. (Énergie, ressources naturelles, impacts). (Morel, 2010)

II.2. Généralité sur la phytoremédiation

Le développement de techniques efficaces pour décontaminer les sites pollués est devenu indispensable (**Mench *et al.*, 2010**). Les récentes technologies envisagées pour la dépollution des sols sont basées sur l'utilisation de voies biologiques, comme les microorganismes et/ou les plantes. Ces méthodes devraient réduire nettement les coûts et les dommages pour l'environnement. De plus, elles sont parfois plus simples à mettre en place même sur de grandes surfaces. La bio-dépollution repose ainsi sur un ensemble de techniques consistant à augmenter la biodégradation d'un polluant dans un sol (**Vidali, 2001**).

La phytoremédiation a un impact positif sur l'opinion publique en tant que "dépollution verte". En effet, elle respecte et restaure l'environnement et représente une alternative aux méthodes classiques trop destructrices et polluantes. Elle tend surtout à être utilisée pour les composés chimiques présentant un risque pour l'environnement (**Meagher, 2001**).

II.3. Définition de la phytoremédiation

Le terme phytoremédiation vient du préfixe grec « phyto » (plante) et du mot latin remedium (corriger ou éliminer un mal) (**Ghosh et sing, 2005**). La phytoremédiation ou la bioremédiation est une nouvelle technologie qui utilise les plantes vertes et/ou des microorganismes associés (ex. bactéries, champignons) (**Smits et Freeman, 2006; Lamb *et al.*, 2010**) pour décontaminer l'environnement et/ou minimiser les risques dans les relations sources – exposition - récepteurs. Elle est basée sur les fonctions des plantes et de leurs microorganismes qui permettent de dégrader ou séquestrer des polluants organiques et inorganiques. Elle peut être utilisée pour des substrats solides, liquides et gazeux et mise en œuvre pour des sols et des eaux polluées (grâce aux plantes aquatiques) ou pour filtrer l'air à l'aide de plantes fixatrices (**Pilon-Smits, 2005**).

II.4. Techniques de la phytoremédiation

La phytoremédiation regroupe différentes méthodes qui se veulent toutes des techniques d'amélioration des sols et de l'eau contaminés par l'établissement d'un couvert végétal, soit la phytostabilisation, la phytodégradation, la phytovolatilisation, la rhizofiltration et la phytoextraction. Elles seront appliquées en fonction du type de contamination et des objectifs de remédiation à atteindre (**Pivetz, 2001**).

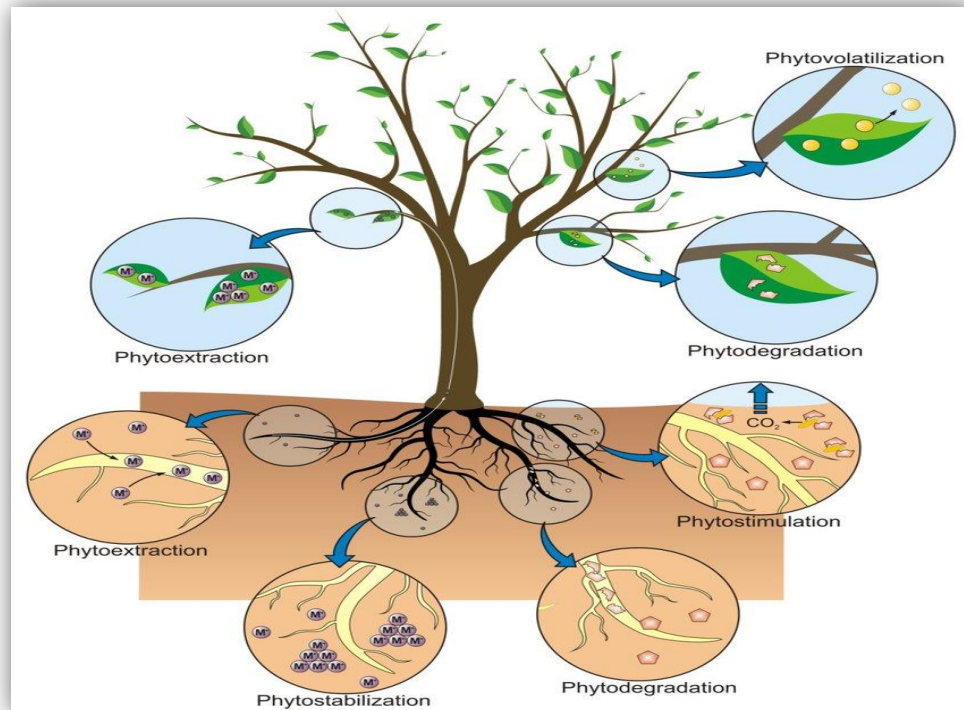


Fig .6 : Méthodes de phytoremédiation . (Favas, 2014)

II.4.1. Phytodégradation

La phytodégradation (ou phytotransformation) repose sur l'effet rhizosphère qui stimule la dégradation des composés organique des sols. Cette décomposition est réalisée grâce à des enzymes variées, internes ou sécrétées par la plante comme (déhalogénases, oxygénases, nitroréductases...) (Chaudhry *et al*, 1998 ; Ann Peer *et al*, 2005).

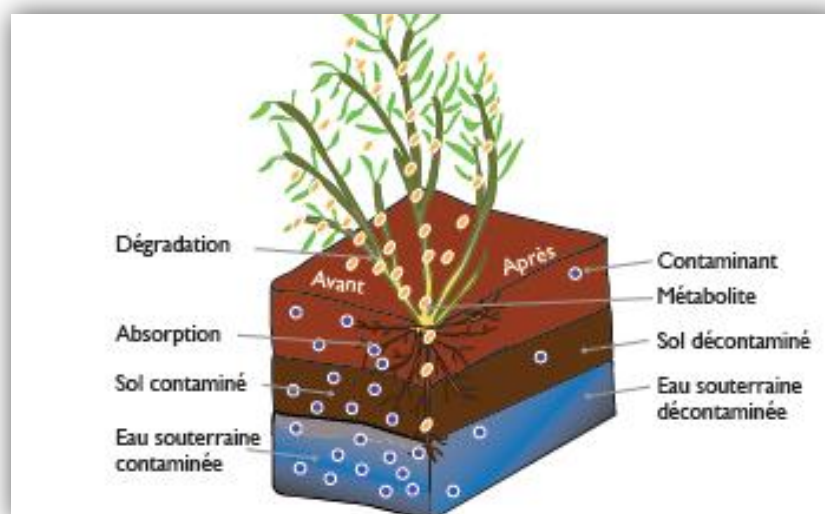


Fig .7 : Technique de phytodégradation (Louise, 2016)

II.4.2. Phytostabilisation

La phytostabilisation est l'implantation d'un couvert végétal sur une surface contaminée qui protège le sol contre l'érosion éolienne et hydrique, les polluants sont ainsi immobilisés dans les écosystèmes (Alkorta *et al.*, 2004 ; Ghosh et Singh, 2005).

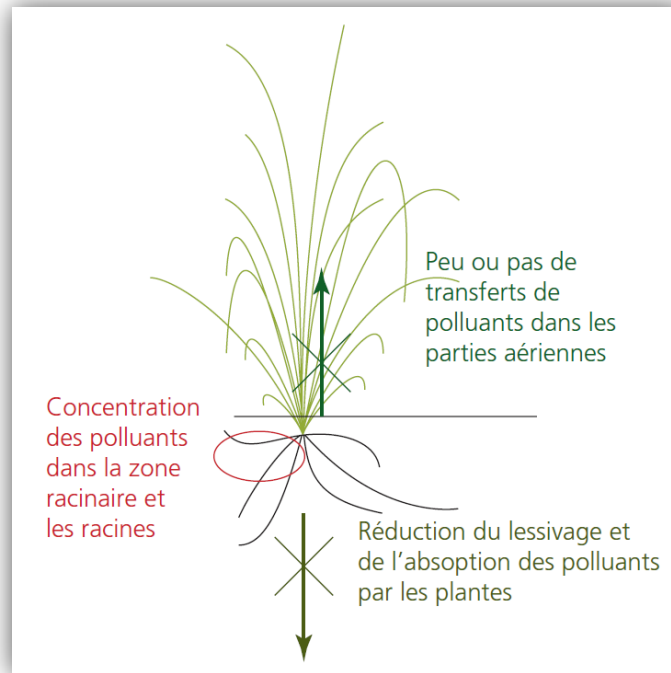


Fig .8 : Technique de la phytostabilisation (Bert *et al.*, 2013).

II.4.3. Phytoextraction

La phytoextraction est une technologie in situ liée aux plantes qui sont capables d'absorber les métaux lourds (Pb, Cd, Ni, Zn, ...) par leurs racines et de les transporter ensuite vers les parties aériennes (Zheng *et al.*, 2011). Les tiges et feuilles sont alors récoltées et éliminées des sites pollués. Ceci contribue à rétablir la fertilité de larges zones agricoles, contaminées pour la plupart dans leur couche supérieure (Alkorta *et al.*, 2004). Deux stratégies sont proposées pour une phytoextraction réussie des sols contaminés par les métaux lourds et autres polluants : la phytoextraction naturelle et la phytoextraction induite ou assistée par des chélateurs (Zheng *et al.*, 2011).

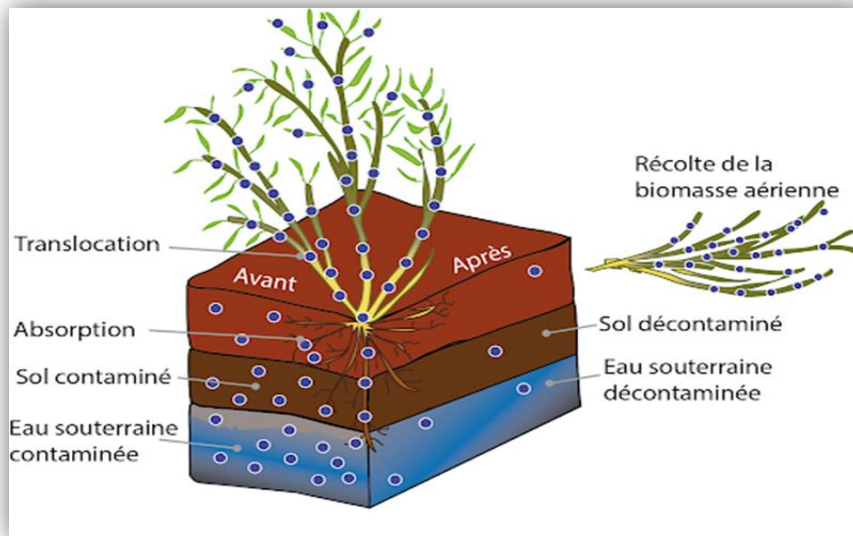


Fig .9: Technique de phytoextraction. (Louise, 2016).

II.4.4. La Phytovolatilisation

Utilisation de plantes qui absorbent des contaminants organiques et autres produits toxiques, transformant ceux-ci en éléments volatiles peu ou pas toxiques et les relâchant dans l'atmosphère via leurs feuilles .pour les composés organiques volatils, le Trichloréthylène (TCE), et des inorganiques comme Se ou Hg (Pilon et Smits, 2005 ;Remon, 2006).

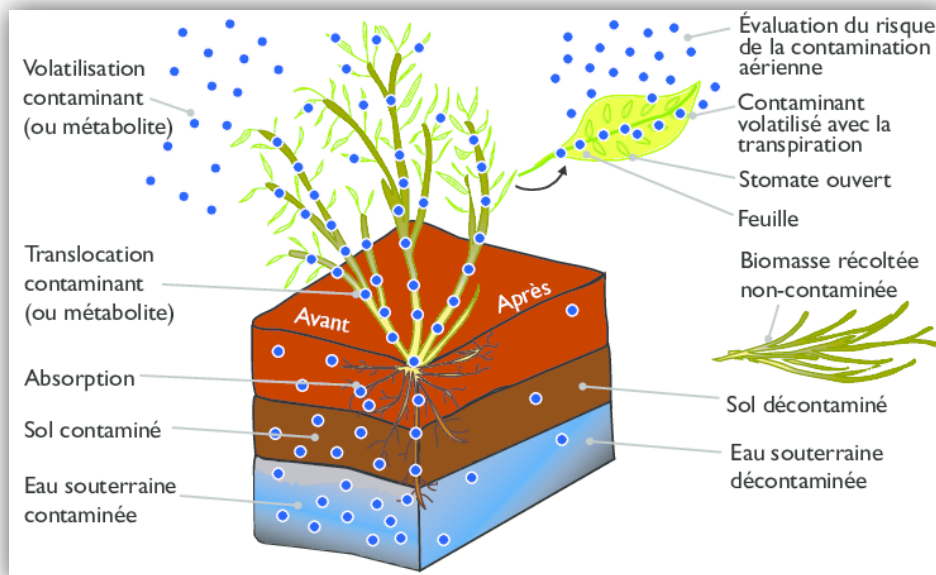


Fig .10 : Technique de volatilisation (Louise, 2016).

II.3.5. Rhizofiltration :

Cette méthode s'applique spécifiquement à la restauration des eaux de surface et souterraines polluées. L'adsorption, l'absorption ou la précipitation des métaux toxiques par les racines jouent un rôle clef dans cette technique et en conséquence, d'importantes surfaces de racines sont requises (Ghosh et Singh, 2005).

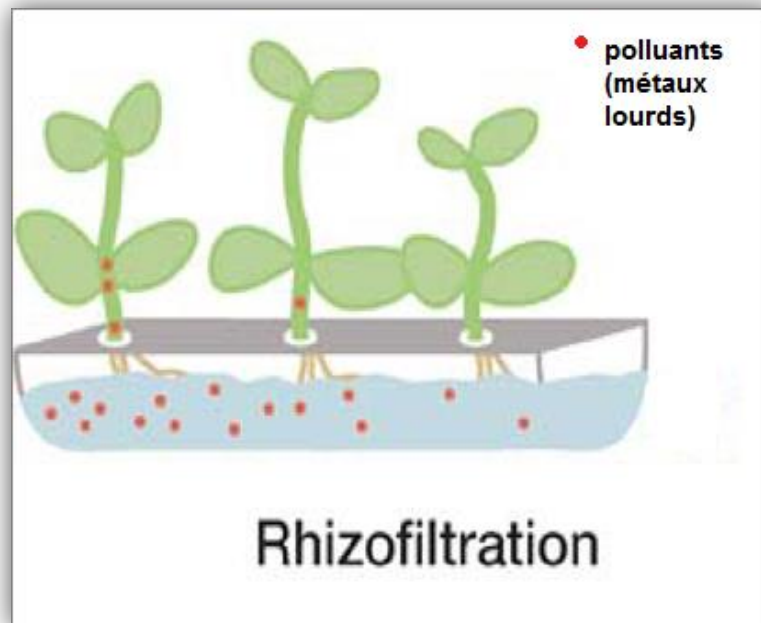


Fig. 11: Processus de la rhizofiltration (colombon *et al.*, 2010).

II.4. Implantation d'espèces tolérantes (Pourquoi restaurer le couvert végétal ?):

L'implantation d'un couvert végétal de plantes tolérantes permet de diminuer la dispersion de contaminants par érosion éolienne et par lessivage. Les plantes tolérantes vont aussi absorber dans une certaine mesure les contaminants créant ainsi une zone d'exposition plus faible pour les autres. L'implantation de végétaux agit aussi de façon indirecte car leur canopée fournit un abri contre le vent et l'ensoleillement souvent élevés dans ces sites et leur litière est source de matière organique (Mench *et al.*, 2005 ; Eranen et Kozlov, 2007).

Dans le cas de la phytostabilisation, un cortège assemblant des espèces ligneuses et herbacées est conseillé. Les arbres permettent de maintenir un flux d'eau vers la surface limitant le lessivage et les herbacées limitent l'érosion éolienne et la dispersion vers les écosystèmes adjacents grâce à leur système racinaire très dense (Pilon et Smits, 2005). Cet assemblage permet d'améliorer des propriétés du sol comme la fertilité ou la capacité d'échange cationique, d'augmenter la quantité de microorganismes et de diminuer l'érosion.

L'implantation de légumineuses capables de fixer l'azote atmosphérique est bénéfique pour l'écosystème (**Guo et al., 2004**). En effet, elles permettent d'enrichir le sol en nutriments et l'utilisation combinée d'annuelles et de pérennes permet de garantir un apport continu de matière organique au sol (**Freitas et al., 2004**,).

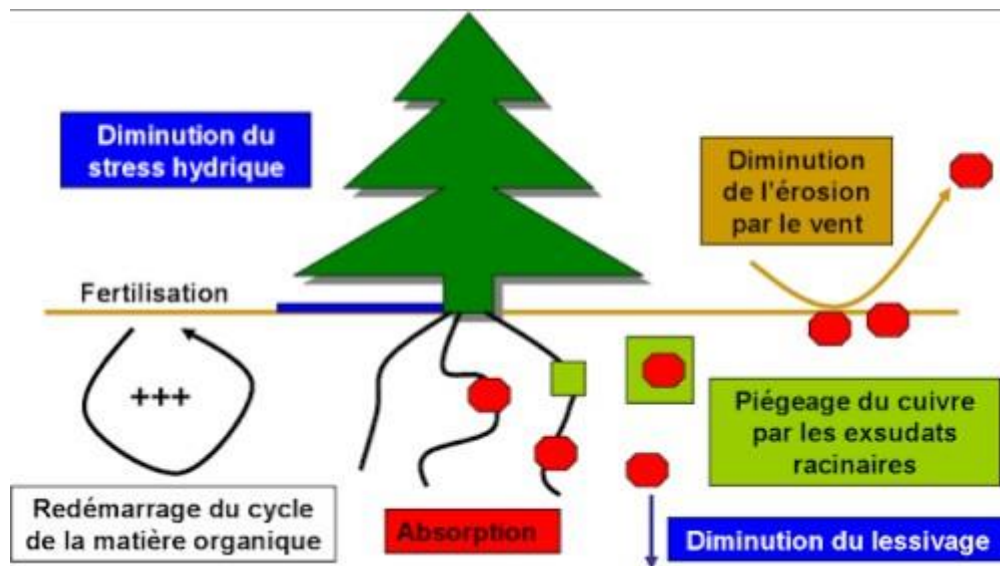


Fig. 12 : Effets de l'implantation d'un couvert végétal sur un sol contaminé (**Bes, 2008**).

II.5. Avantages et limites de la phytoremédiation

II.5.1. Avantages :

La technique présente de nombreux avantages :

- En adéquation avec le développement durable.
- Gestion in situ des terres : pas de transfert de sol.
- Traitement sur de grandes superficies (**Bert, 2012**).
- Par comparaison avec les traitements physico-chimiques, la phytoremédiation montre un faible coût (se situe en moyenne entre 2 et 100 dollars / m³).
- Elle provoque une perturbation minimale de l'environnement et permet même de réinitier le cycle de dégradation de la matière organique là où la végétation avait disparu. (**Bert, 2012**).
- La décontamination par les plantes présente aussi l'avantage de réduire l'érosion et le lessivage des sites ce qui maintient le polluant à proximité de la plante (**Berti et al., 1995**).
- Très peu de modification de la topographie existante du site.

- récupération et réutilisation de métaux de valeur peut être possible (des entreprises se spécialisent dans le « phytominage ») (**Rudolph, 2010**).

II.5.2. Limites

En regard de ses nombreux avantages, la phytoremédiation ne présente que peu de limitations

- Durée de décontamination longue, de l'ordre de plusieurs années (2 à 20 ans).
- Risque de déstabilisation de l'écosystème local (**Bert, 2012**).
- On ne peut pas, avec des systèmes de remédiation à base de plantes, empêcher totalement l'écoulement des contaminants dans la nappe phréatique (**Bert, 2012**).
- Le niveau et le type de contamination influence la phytotoxicité des polluants (dans Certains cas, la croissance ou la survie des plantes peut être réduite) (**Bert, 2012**).
- Problème de multi-pollutions qui limite le choix des plantes (**Rudolph, 2010**).

III. *Cleome amblyocarpa*:

III.1. Systématique :

Les Cleomaceae sont une petite famille de l'ordre des Brassicales, comprenant plus de 300 espèces appartenant à 17 genres selon l'APG III dont: *Cleome*, *Cleomella*, *Dactylaena*, *Haplocarpum*, *Justago*, *Peritoma*, *Podandrogyne*, *Polanisia* et *Wislizenia* (**Aparadh et al., 2012**) Autrefois rattachées au Capparaceae, les plantes de la famille des Cleomaceae se trouvent dans les régions tropicales et tempérées.

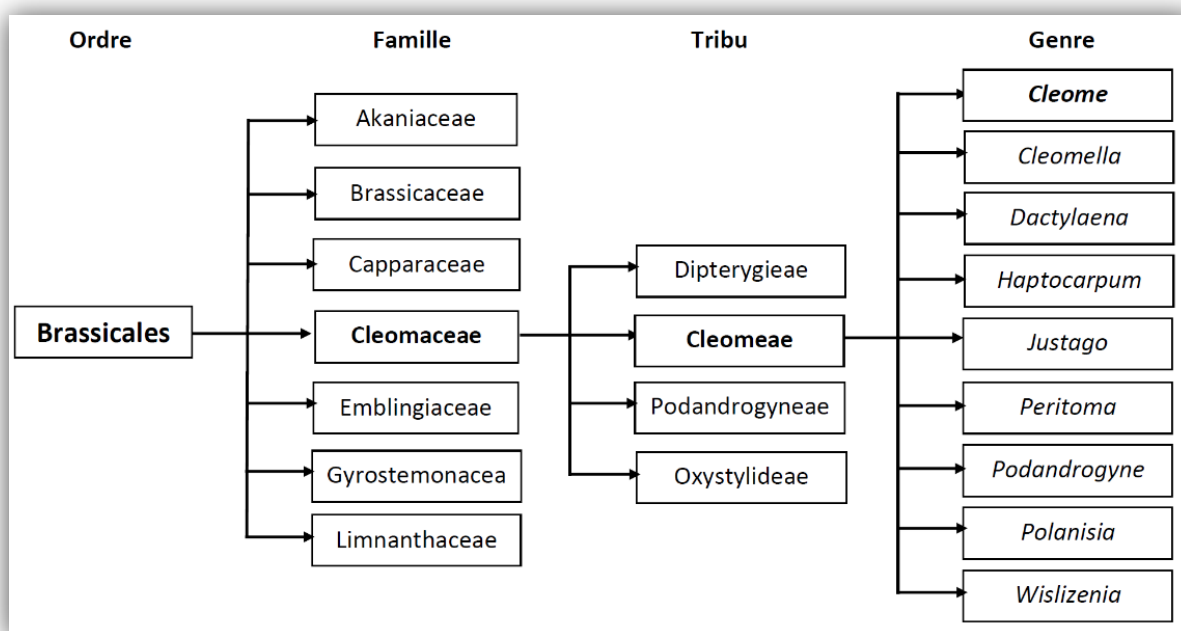


Fig.13: Arbre de phylogénie botanique du genre *Cleome* (**Aparadh et al., 2012**)

III.2. Genre Cléome :

Le genre *Cleome* est le plus représenté dans cette famille avec 180 à 200 espèces qui sont des sources importantes de médicaments traditionnels, de plantes alimentaires et utilisées pour d'autres usages (**Aparadh et al., 2012**).

Ces plantes sont largement distribuées et la majeure partie est limitée aux régions tropicales, où on peut y trouver environ 150 espèces, en particulier en Asie du Sud-Ouest (**Aparadh et al., 2012 Raghavan et al., 1993**). Il s'agit de plantes herbacées annuelles ou vivaces. Les tiges sont pas ou peu ramifiées, glanduleuses pubescentes ou glabres. Les feuilles sont simples ou palmatilobées comprenant entre 3-11 folioles. Les stipules sont absentes ou écailleuses. Les fleurs sont zygomorphes à sépales persistants soudés à la base. Les pétales

sont égaux. On compte de 4 à 6 étamines libres. L'ovaire est supère et uniloculaire. Les fruits sont des capsules allongées déhiscentes par 3 valves, et contiennent de 4 à 25 graines réniformes ou ovoïdes (Tucker *et al.*, 2010).

III.3. Description de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb

Le *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb est une espèce saharienne spontanée qui s'adapte aux conditions climatiques et édaphiques de l'environnement désertique. C'est une plante vivace, de la famille des Capparidaceae ramifiée, vert jaunâtre, de 10 à 40 cm de haut, à l'odeur fétide et désagréable. Tiges droites, feuilles trifoliolées. Feuilles lancéolées, fleurs pourpres et grand nombre de fruits dans des capsules allongées et poilues (Ozenda, 1991 ; Quezel et Santa., 1963).

Le "Netile" est considéré par les nomades comme une plante toxique provoquant des troubles nerveux (Le Floc'h, 1983), c'est aussi une plante médicinale utilisée pour soulager la douleur. Mélangée à *Juniperus phoenicia*, *Hammada scoparium*, elle traite les maux de tête, et mélangée à *Artemisia herba-alba*, elle devient un traitement contre les nausées, les gastralgies, les vomissements et les coliques (Molino, 2005). L'activité anti-inflammatoire de l'extrait de feuille de *C. amblyocarpa*, observée in vivo comme in vitro, pourrait être due à sa forte teneur en flavonoïdes (19 %) (Bouriche *et al.*, 2003 ; Bouriche et Arnhold, 2010).



Fig 14: plante *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb.
(http://www.floraofqatar.com/cleome_amblyocarpa.htm)



Fig 15: Gousses de *Cleome amblyocarpa*

fig 16: Graines de *Cleome amblyocarpa*

(<http://atlas-sahara.org/index/liens/liens.html>)

III.6. Propriétés biologique

III.6.1. Usages en médecine traditionnelle :

En Inde, *Cleome chelidonii* est utilisée contre les rhumatismes, comme antalgique (maux de tête, otite) et antipyrétique (**Parimalakrishnan et al., 2007**), dans le traitement de la colique, la dysenterie (**Kirtikar et Basu., 1987**). Elle possède également des propriétés bénéfiques contre les maladies de la peau et comme vermifuge (**Chopra et Nayar., 1992**).

III.6.2. Usage ethnobotanique :

Agent Sédatif ; analgésique ; traitement gastrique ; anticolique ; anti-grippe ; anti-vomissement ; agent diurétique ; contre les douleurs névralgiques ; contre les douleurs rhumatismales ; agent hallucinogène ; anti-inflammation ; anti-gale ; contre la fièvre rhumatismale ; traitement des maladies du foie ; contre la diarrhée ; cicatrisant. (**Unicer, 2005 ; Baba Aissa, 2011**).

III.6.3. Activités biologiques

Plusieurs recherches scientifiques s'intéressaient à étudier les propriétés biologiques et pharmacologiques des espèces du genre *Cleome*, le **tableau 5** récapitule la majorité des activités liées aux différentes espèces de *Cleome* y compris la *Cleome arabica* (**Madi, 2018**).

Tableau 5: Les activités biologiques du genre *Cleome*.(Madi, 2018).

Espèce	Activités biologiques	Référence
<i>Cleome rutidosperma</i>	Activité antalgique ; Activité anti-inflammatoire ; Activité antipyrétique.	Bose <i>et al.</i> , 2007
<i>Cleome paradoxa</i>	Activité Antidiabetique	Abdel-Sattar <i>et al.</i> , 2009
<i>Cleome iberica</i>	Activité Antimicrobienne ; Activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses du col de l'utérus ; Activité antioxydante (DPPH)	Farimani <i>et al.</i> , 2016
<i>Cleome viscosa</i>	Activité antalgique ; Activité antipyrétique ; Activité antimicrobienne ; Anti-diarrhée ; Effet antiémétique Effet hépato-protecteur.	Parimala Devi <i>et al.</i> , 2003 ; Sudhakar <i>et al.</i> , 2006 ; Parimala Devi., 2002 ; Gupta & Dixit., 2009 ; Ahmed <i>et al.</i> , 2011
<i>Cleome rosea</i>	Inhibition de la production d'oxyde nitrique (NO) ; Effet antioxydant en protégeant le DNA plasmide	Simoes <i>et al.</i> , 2006
<i>Cleome droserifolia</i>	Effet hypoglycémiant ; Activité anti-athérogène ; Activité anti-microbienne ; Effet diurétique ; Effet hépato-protecteur ; Effet relaxant ; Effet antihistaminique.	Wang & Ng., 1999 ; Khafagi & Dewedar., 2000 ; Fushiya <i>et al.</i> , 1999 ; Abdel-Kawy <i>et al.</i> , 2000 ; El-Shenawy., 2006 ; Abdel-Kader., 2009
<i>Cleome arabica</i>	Activité antagoniste ; Activité antifongique ; Effet allélopathique ; Activité anti-inflammatoire ; Anti alimentation ; Effet insecticide ; Effet anti-hyper cholestérolémique ; Activité anticancéreuse	Goudjala <i>et al.</i> , 2014 Ladhari <i>et al a & b.</i> , 2013 Bouriche <i>et al.</i> , 2005 ; Samout <i>et al.</i> , 2015 Tigrine <i>et al.</i> , 2013
<i>Cleome gynandra</i>	Inhibition de la production des ROS (sous condition de stress) ; Activité anticancéreuse ; Activité antioxydante (piégeage des radicaux libres) ; Activité anti-inflammatoire.	Uzilday <i>et al.</i> , 2012 ; Bala <i>et al.</i> , 2012 ; Moyo <i>et al.</i> , 2013 ; Narendhirakannan <i>et al.</i> , 2007
<i>Cleome africana</i>	Activité antioxydante (piégeage du radical libre ABTS)	Tawaha <i>et al.</i> , 2007
<i>Cleome Turkmena</i>	Activité antioxydante ; Activité antibactérienne ; Activité antifongique	Farjam <i>et al.</i> , 2014
<i>Cleome felina</i>	Activité anticancéreuse	Joseph <i>et al.</i> , 2014

IV. Germination

IV.1. Définition de la germination

La germination comprend les événements qui commencent par l'absorption d'eau par la graine sèche et se terminent par l'allongement de l'axe embryonnaire. Le signe visible que la germination est complète est généralement la pénétration des structures entourant l'embryon par la radicule ; le résultat est souvent appelé germination visible. Les événements ultérieurs, y compris la mobilisation des principales réserves de stockage, sont associés à la croissance du plant. Pratiquement tous les événements cellulaires et métaboliques connus avant la germination des graines non dormantes se produisent également dans les graines dormantes imbibées ; en effet, les activités métaboliques de ces dernières ne sont souvent que subtilement différentes de celles des premières. Ainsi, une graine dormante peut accomplir pratiquement toutes les étapes métaboliques requises pour achever la germination, mais pour une raison inconnue, l'axe embryonnaire (c'est-à-dire la radicule) ne s'allonge pas (**Bewley et Black, 1994**).

On distingue deux types de méthodes de germination présentées par les graines au cours de leur développement en une plante mature, la germination épigée et la germination hypogée (**Kumar, Srinibas. 2015**).

La différence principale entre ces deux types est que les cotylédons s'émergent du sol pendant la germination épigée, tandis que dans la germination hypogée, les cotylédons restent à l'intérieur du sol. Cela signifie que l'hypocotyle présente un allongement plus important de la germination de l'épigée alors que l'hypocotyle est court en germination de l'hypogée (**Kumar, Srinibas. 2015**).

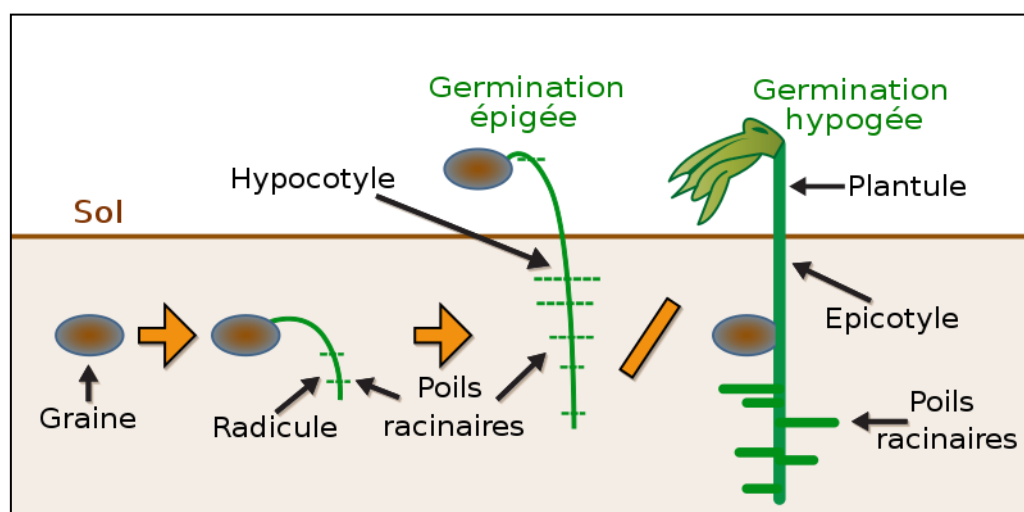


Fig15. Schéma de la germination épigée et hypogée (**Germination-fr.svg, 2019**).

IV .2. Morphologie et physiologie de la germination

IV.2.1. Morphologie de la germination

La graine est constituée de plusieurs types de tissus d'origines différentes, l'embryon et l'album en sont issus de la fécondation (Nouara, 2007). L'embryon, qui représente l'élément principal de la graine, est totalement recouvert de l'albumen, c'est la zone de stockage des réserves nécessaires au développement de la plantule (Anzala, 2006).

Les phénomènes morphologique de la germination débutent toujours par la sortie de la radicule qui perce le tégument, se recourbe et s'implante dans le milieu ; la tigelle ne se dégage que plus tard (Ozenda, 2006).

IV.2.2. Physiologie de la germination

Lors de la germination, la graine s'imbibe d'eau et se gonfle, le tégument se fend et la radicule émerge et s'oriente vers le milieu (sol) selon un géotropisme positif. Puis, la tigelle émerge et s'allonge vers le haut. Les téguments de la graine se dessèchent et tombent (Meyer *et al* ; 2004).

IV .3. Phases de germination

Il est ainsi démontré que la germination comprend trois phases successives (figure 1) : la phase d'imbibition, la phase de germination stricto sensu et la phase de croissance. On retrouve ces trois mêmes étapes pour l'activité respiratoire. Jusqu'à la fin de la phase de germination stricto sensu, la semence peut être déshydratée sans être tuée, mais lorsque la radicule a commencé sa croissance, la déshydratation est fatale. Après trois heures d'imbibition, une période de déshydratation n'est pas dommageable aux semences de *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra*, *Phleum pratense*, *Onobrychis sativa*, *Trifolium pratense* et *Achillea millefolium*, et n'a pas de conséquence sur la vitesse et la capacité de germination ultérieures (Bayard, 1991).

En outre, la germination stricto sensu et la croissance sont deux phénomènes qui ne sont pas sensibles de la même façon aux mêmes facteurs. C'est cette profonde transformation physiologique irréversible qui caractérise le mieux la germination pour de nombreux auteurs.

Des différents mécanismes physiologiques qui entrent en jeu dans le processus de germination, c'est la phase de germination stricto sensu qui est la plus importante car elle conditionne la croissance ultérieure. Lors des tests de germination, il est néanmoins difficile de savoir à quel moment cette phase est terminée. C'est pourquoi la percée des enveloppes par

la radicule ou l'allongement de celle-ci sont couramment utilisés pour déterminer que la semence a germé (Côme, 1982). La semence germe lorsque la radicule fait au moins 1 mm de long (Jordan et Haferkamp, 1989).

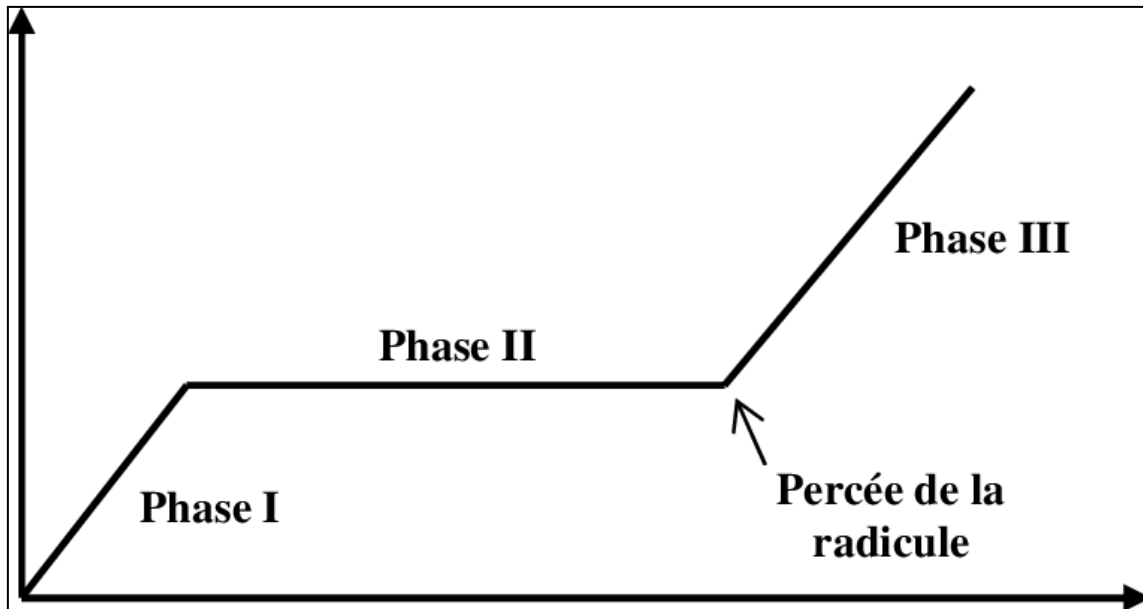


Fig. 16 : Absorption d'eau par la semence au cours de la germination et du début d'allongement de la radicule. Phase I : imbibition. Phase II : reprise de l'activité métabolique et initiation de la croissance, aboutissant à la percée de la radicule au travers du tégument. Phase III : croissance de la radicule (Bewley et Black, 1994).

IV .4. Conditions de la germination

IV.4.1. Condition interne de la germination

IV.4.1.1 viabilité de graines

Toute graine ; même normalement constituée ; n'est pas indéfiniment viable ; les échanges avec le milieu extérieur, si réduits soient-ils, existent cependant. La graine vieillit donc. On peut, à condition de prendre certaines précautions, conserver des noix plusieurs mois avant le semis (Henry Pierre ,1951).

IV.4.1.2 Maturité physique

Les graines doivent être mures physiquement, c'est-à-dire, que l'albumen et l'embryon doivent avoir atteint leur complet développement (Henry Pierre ,1951).

IV.4.1.3 La maturité physiologique

Cette condition est totalement indépendante de la précédente. dans la plupart des végétaux cultivés, elle passe bien souvent inaperçue parce qu'il arrive qu'elle soit réalisée en même temps que la maturité physique ou immédiatement après la maturation physiologique ne s'opère que lorsque les conditions externes de germination sont réalisées, et elle dure plusieurs semaines ou plusieurs mois suivant les individus (**Henry Pierre ,1951**).

IV.4.2. Condition externe de la germination

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

•L'eau

Elle est absolument nécessaire, en son absence, la graine reste sèche et peut conserver longtemps sans changer d'état liquide (**Chaussat et al., 1975**).

•L'oxygène

En même temps que l'imbibition, on constate que les graines qui étaient en vie ralentie, se remettent à respirer. Selon (**Soltner, 2007**) l'oxygène est indispensable à la germination. Une faible quantité d'oxygène peut être suffisante pour permettre la germination. (**Mazliak, 1982**).

•La température

La température compatible avec la germination s'inscrit dans une gamme assez large (sous réserve que la semence ne soit pas dormante) (**Heller et al., 2006**).

• La lumière

La lumière agit de manière différente sur les espèces. Elle inhibe la germination des graines à photosensibilité négative et stimule celles-ci à photosensibilité positive (**Anzala, 2006**). Les espèces indifférentes à la photosensibilité sont rares (**Heller et al., 1990**).

En conclusion, humidité, chaleur, oxygénation et exposition à la lumière sont les maîtres mots d'une germination efficace (**Brahimi ,2017**).

IV. 5. Conditions de stockage des graines

Le stockage des graines dépendent de l'humidité de la graine. Une humidité de 8 à 9 % est recommandée pour le stockage de longue durée (**Winch, 2006**). L'eau contenue dans les graines existe sous deux formes : L'eau de composition, contenue à l'intérieur des cellules végétales et l'eau libre qui se trouve à la surface des cellules, dont une partie est absorbée superficiellement par ces dernières. C'est cette eau libre qui conditionne la conservation des graines (**Amari, 2014 in Brahim, 2017**).

IV.6. Différents obstacles de la germination

IV.6 .1. Inhibiteurs tégumentaires

Les enveloppes séminales qui entourent l'embryon constituent des obstacles plus ou moins efficaces au passage de l'eau ou de l'oxygène et leur action sur la germination peut être importante. Les téguments sont dégradés dans le sol grâce aux conditions climatiques tel que le gel, les incendies le lessivage par de l'eau ou les animaux : les techniques de scarification et de lixiviation sont les plus courantes (**Bewley et Black, 1994**).

IV.6.1.1. Imperméabilité à l'eau

Il existe des semences qui ne peuvent pas germer parce que leurs enveloppes ne laissent absolument pas passer l'eau. En milieu humide, ces semences ne gonflent pas, restent sèches et résistent à l'écrasement. C'est pourquoi elles sont appelées semences dures.

Les espèces à semences dures sont couramment rencontrées chez les légumineuses (Césalpiniées, Mimosacées et Papilionacées). Les semences deviennent dures pendant la phase de déshydratation, en fin de maturation.

Pour éviter des traitements ultérieurs destinés à augmenter le taux de germination, il faut récolter très tôt les semences qui n'ont pas encore de téguments durs (**Nokes, 1986**). Mais les graines deviendraient plus dures avec le temps (**Vora (1989)**).

IV.6.1.2. Imperméabilité à l'oxygène

Les céréales (blé, orge, avoine) constituent l'exemple classique d'espèces dont la germination des semences est inhibée du fait de l'imperméabilité des téguments à l'oxygène. De nombreuses autres plantes montrent le même problème (**Dorne, 1977**).

Les semences fraîchement récoltées de ces espèces ne germent pas ou très mal à des températures supérieures à 25°C, elles sont dites dormantes. L'imperméabilité des enveloppes

séminales à l'oxygène est variable suivant les espèces. C'est en effet la structure anatomique des enveloppes qui détermine leur perméabilité à l'oxygène. Pour les semences non imbibées il existe deux sortes de structures qui ne permettent pas le passage de l'oxygène (Côme, 1982):

- une structure non poreuse, où les cellules qui constituent l'enveloppe sont toutes jointives ;

- une structure poreuse, mais recouverte d'une couche superficielle imperméable (du mucilage par exemple).

Lorsqu'une graine est imbibée, l'oxygène doit traverser les enveloppes en se dissolvant dans l'eau d'imbibition. Ainsi, plus les enveloppes sont minces, plus le débit d'oxygène vers l'embryon peut être important. Cependant, la présence fréquente de composés phénoliques dans les enveloppes diminue la quantité d'oxygène disponible pour l'embryon. En effet, ces composés qui se dissolvent dans l'eau d'imbibition se comportent comme un véritable piège à oxygène car ils s'oxydent en présence de ce gaz sous l'action de polyphénoloxydases (Côme, 1967).

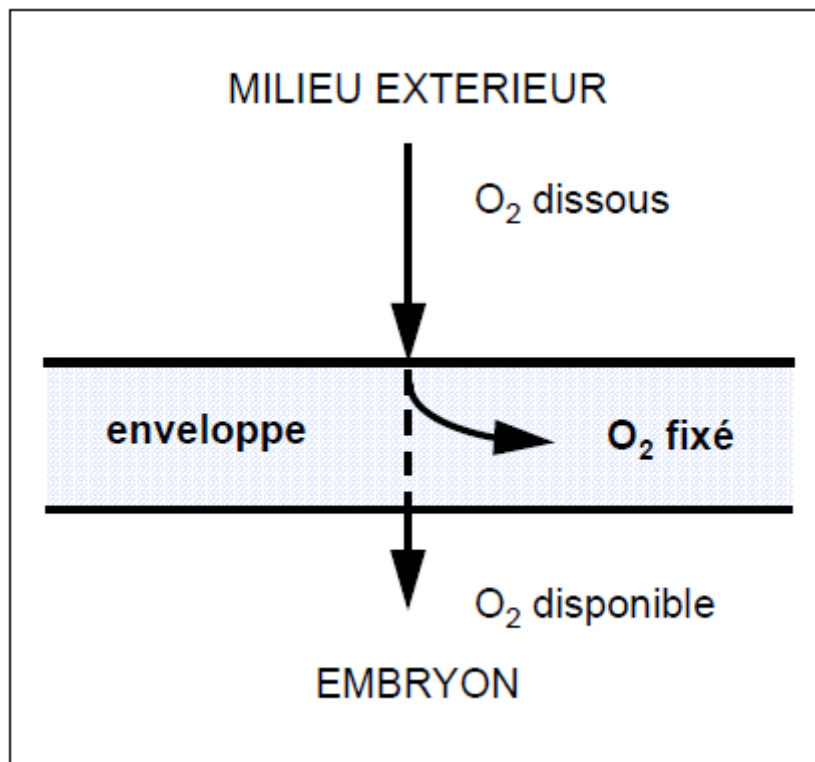


Fig.17 : Schéma du mécanisme de l'apport d'oxygène à l'embryon, à travers les enveloppes séminales imbibées qui renferment des composés phénoliques (Côme, 1967).

IV.6. 2. Dormance embryonnaire

La dormance des semences a été définie comme l'incapacité d'une graine viable à germer dans des conditions favorables (**Bewley, 1997; Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006**).

La dormance des semences de plantes est un caractère très complexe qui est déterminé par divers facteurs endogènes et exogènes ; ce sujet a souvent été décrit comme l'un des phénomènes les moins bien compris de la biologie des semences (**Bewley 1997 ; Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006**).

La dormance des semences retarde ou empêche les processus de germination même dans des conditions de germination idéales

Il existe deux types de dormance embryonnaire :

- la dormance embryonnaire primaire, qui s'installe au cours du développement de la semence

- la dormance embryonnaire secondaire, qui correspond à la perte de l'aptitude à germer lorsque l'embryon, à l'état imbibé, est placé dans des conditions incompatibles avec sa germination (températures trop élevées, manque d'oxygène, présence de lumière).

L'induction de la dormance secondaire, qui se met en place chez les embryons qui, au départ, ne sont pas dormants, s'intensifie à l'approche de la saison froide pour *Scabiosa atropurpurea L* et protège les semences d'une reprise de l'activité métabolique au moment où les conditions climatiques ne sont pas favorables au développement des plantules (**Mineau, 1987**).

Partie
expérimentale

V. Matériel et méthodes

V.1. Objectif

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de plomb sous forme de nitrate du plomb $[Pb(NO_3)_2]$ sur le taux de germination final, la cinétique de germination, la longueur des radicules et des tigelles, l'indice de tolérance et le pourcentage de phytotoxicité de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb.

V.2. Site d'étude : Site expérimental

L'essai a été réalisé au niveau de laboratoire de biodiversité et de conservation des eaux et des sols de la Faculté des sciences exactes et informatique Site 2 –Zaghloul ; wilaya de Mostaganem.



Fig. 20: Localisation de Faculté des sciences exactes et de l'informatique Université de Mostaganem - Site 2 (Google earth 2020).

V.3. Matériel végétal :

Graines de *Cleome amblyocarpa* : Les graines utilisées sont récoltées depuis juin 2019, sur un site tracé par une route nationale RN6, dans le district d'EL BAYADH situé à (33°54'54,21"N, 0°12'20'59"E ; Sud-Est de l'Algérie), dans les hautes plaines steppiques du Sud-Ouest de l'Algérie (Figure. 21).



Fig. 21 : Site de collecte des semences (Bennaoum *et al.*, 2019).



Fig. 22: A-*Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb; B- gousses; C- graines.

V.4. Protocole expérimental

V.4.1. Traitement des graines

Le traitement des semences est effectué au cours du mois de décembre 2019 au laboratoire de biodiversité et de conservation des sols et des eaux de l'Université de Mostaganem.

Les graines de *Cléome amblyocarpa* Barre & Murb, sont lavées avec l'hypochlorite de sodium à 8° pendant 10 min pour éliminer toute contamination fongique, puis rincées abondamment avec l'eau distillée 03 fois pour supprimer toutes traces de l'hypochlorite de sodium. Pour faciliter la germination, les graines sont imbibés dans de l'eau distillée pendant 24 heures, et mises à germer dans des boites de Pétri en plastique stériles, munies de deux couches de papier filtre stérile à raison de 20 graines par boîte et cinq répétitions par traitement. Chaque boîte a reçu 10 ml de l'eau distillée pour graines témoins et le même volume pour les graines stressées par le plomb à différentes concentrations (50, 100, 150, 200 et 250 ppm). Ensuite, Les boites sont placées à l'obscurité dans une étuve réglée à une température de 26°C. Les semences sont suivies toutes les 24 h durant quinze jours.



Fig. 23 : Lavage des graines avec l'hypochlorite de sodium 8°.



Fig. 24: Rinçage et Imbibition des graines dans l'eau distillée

V.5. Mise en germination

Après avoir été stérilisées, les graines de *Cleome* ont été mises à germer dans le noir dans une étuve réglée à 26°C, pendant quinze (15) jours, chaque jour les graines sont retirées, comptées pour déterminer les graines ayant germé, puis remises à germer à nouveau. Le critère de la percée de la radicule a été adopté pour évaluer la germination des graines. Dès que la radicule des graines de couleur blanchâtre sort hors du tégument, la graine est comptabilisée comme étant une graine germée. Ces dénombrements sont répétés chaque jour pendant toute la durée de l'expérimentation.

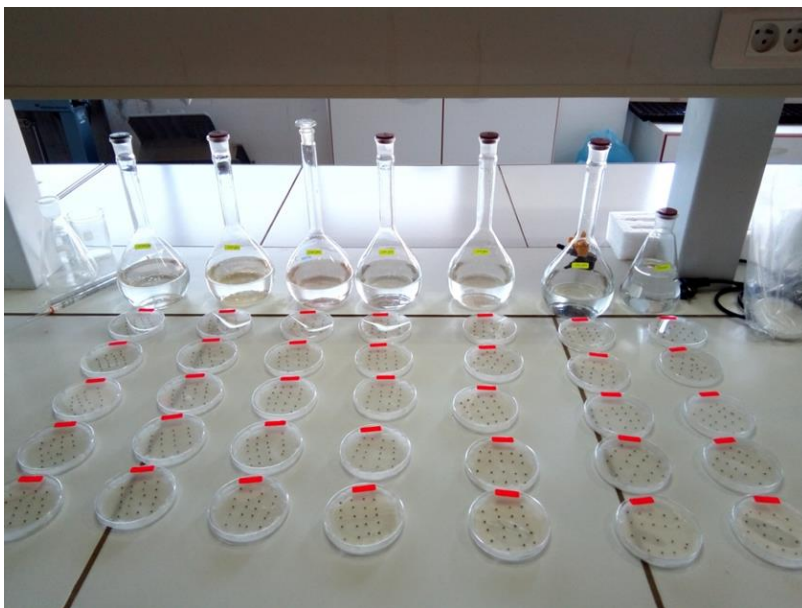


Fig. 25 : dispositif expérimental.

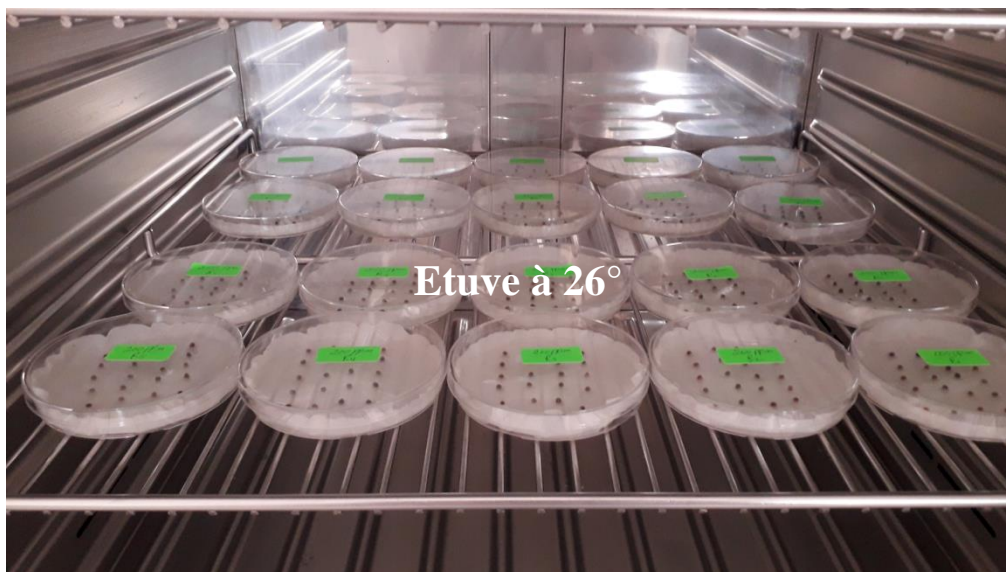
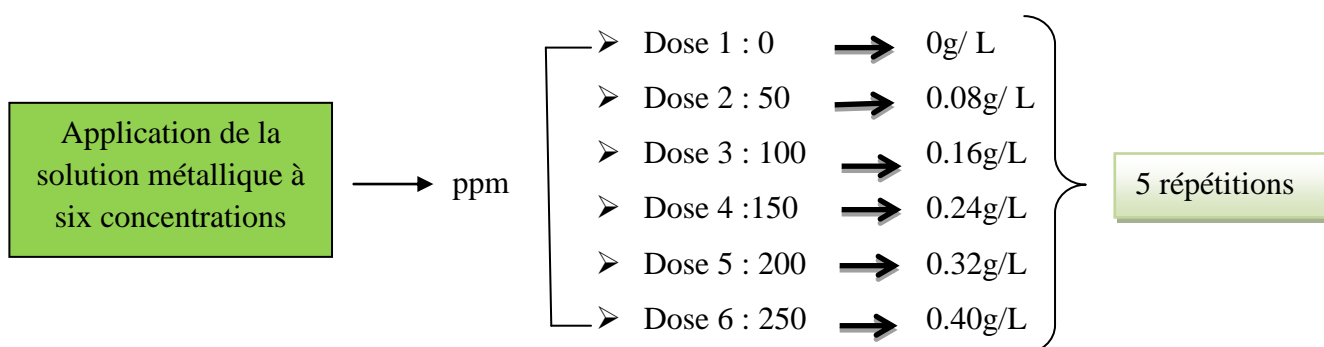


Fig. 26 : Germination des graines de *Cleome amblyocarpa* Barr & Murb.

V.6. Préparation de solution

Pour préparer une solution aqueuse de nitrate de plomb $Pb(NO_3)_2$ de masse molaire 331,2 g/mol, de différentes concentrations allant de 0 jusqu'à 250 ppm, il ya deux méthodes : par dissolution de cristaux ou par dilution d'une solution concentrée initiale.



V.7. Paramètres analysés

V.7.1. Taux de germination final

Le taux de germination final a été calculé par le rapport du nombre de graines germées sur le nombre total de graines rapporté à 100 (**Tanveer et al., 2010**).

$$TG(\%) = \frac{(\text{Graines germées})}{(\text{Nombre total des graines})} \times 100$$

V.7.2. Cinétique de germination

Elle est exprimée en pourcentage quotidien de graines germées par rapport au nombre total de graines par boîte de Pétri (%) (**Mazliak, 1981**).

Le taux de germination relatif (TGR) et la longueur des radicules et des tigelles ont été mesurés, ainsi que le rapport entre eux.

$$TGR = \frac{(\text{pourcentage de germination graines traitées})}{(\text{pourcentage de germination graines témoins})}$$

V.7.3. Longueur des radicules et des tigelles

L'élongation radiculaire a été évaluée par des relevés des longueurs radiculaires à l'aide de papier millimètre de six graines par boîte tous les 2 jours pour évaluer la croissance de la plantule en réponse au stress. Les mesures de ce paramètre sont effectuées à partir du 3ème jour de l'expérience jusqu'à la fin de l'expérience.

V.7.4. Indice de tolérance (I.T.)

Il a été calculé selon la formule donnée par **Iqbal et Rahmati (1992)**.

$$I.T. = \frac{(\text{longueur de la radicule traitée})}{(\text{longueur de la radicule témoin})} \times 100$$

V.7.5. Pourcentage de phytotoxicité (P.P.)

Le pourcentage de phytotoxicité a été calculé selon **Chou et Lin (1976)** et **Ray et Banerjee (1981)**.

$$PP = \frac{(\text{Longueur radicule témoin} - \text{Longueur radicule traitée})}{(\text{Longueur radicule témoin})} \times 100$$

V.7.6. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont soumises à une analyse statistique, à une analyse de la variance (ANOVA), les moyennes et les écarts type sont aussi calculés à l'aide du logiciel R version 3.5.3 (2018-12-20).

Résultats
&
Discussion

VI. Résultats et discussion

VI. 1. Effet du plomb sur le taux de germination des graines de *Cleome amblyocarpa* Barr. &Murb

Les résultats obtenus montrent que le taux de germination des graines de *Cleome amblyocarpa* est supérieur à 45% pour toutes les doses appliquées de nitrate de plomb (0, 50, 100, 150, 200 et 250 ppm). Les valeurs les plus élevées de taux de germination des graines de *Cleome amblyocarpa* sont enregistrées dans les graines témoins avec un taux de 55% et les graines traitées avec 200 ppm avec un taux de 57%. L'analyse statistique montre une diminution non significative avec une probabilité qui est égale 0,8 ($P > 0,05$) où les valeurs suivantes sont enregistrées : 51, 49, 54 et 49% respectivement à des concentrations de 50, 100, 150 et 250 ppm (Fig.27).

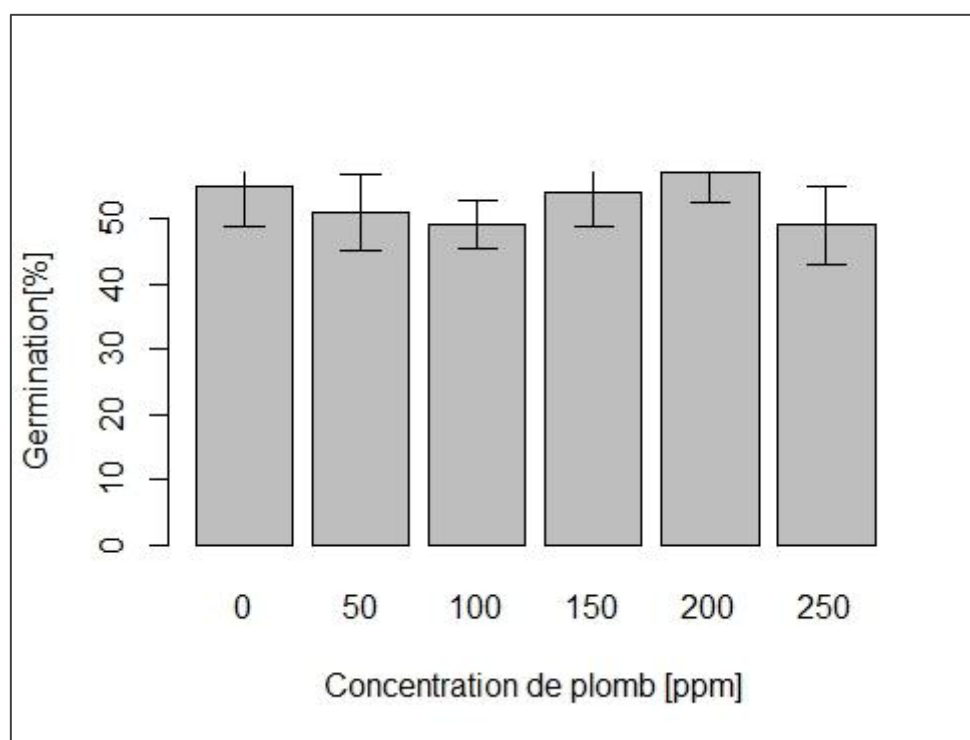


Fig. 27 : Effet du plomb (0, 50, 100, 150,200 et 250 ppm) sur le taux de germination des graines de *Cleome amblyocarpa* Barr. &Murb.

VI.2. Effet du plomb sur la cinétique de germination des graines de *Cleome amblyocarpa* Barr. &Murb

L'indice de germination montre que le taux de germination est significativement diminué par rapport au témoin où la probabilité est ($P= 0,043$). La germination commence à

partir du 3^{ème} jour avec un taux de germination plus de 12% pour toutes les graines. Les graines traitées à 0, 150 et 200 ppm de Pb germent plus rapidement et atteignent un taux de germination final le 7e jour avec des valeurs de 55 %, 54 % et 57 % respectivement. Une germination plus lente est enregistrée dans les graines de *Cleome amblyocarpa* traitées à des doses de 50, 100 et 250 ppm de Pb avec des valeurs de 51 %, 49 % et 49 % respectivement. Une germination constante est constatée jusqu'au 15e jour, après sept jours de germination (Fig. 28).

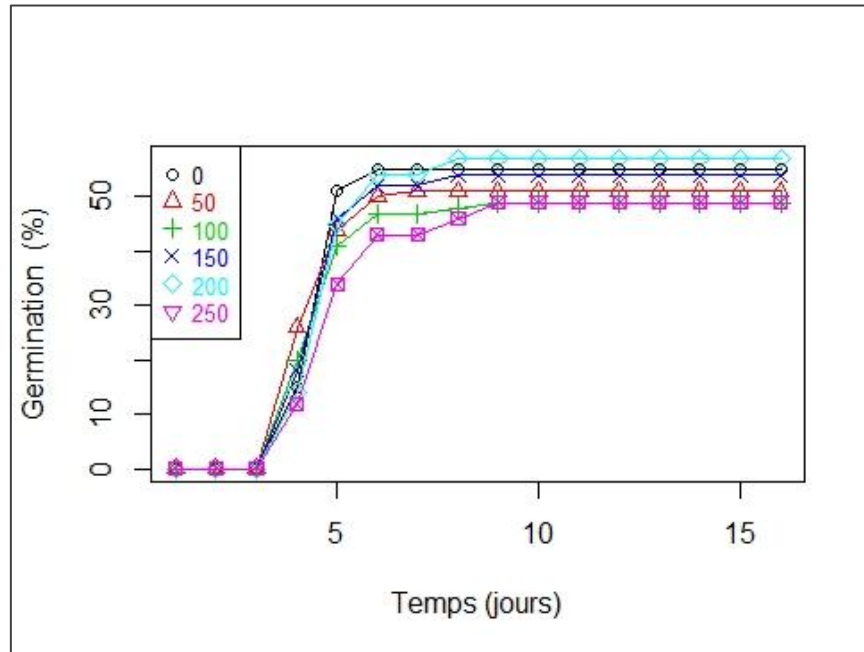


Fig. 28 : Effet du plomb (0, 50, 100, 150, 200 et 250 ppm) sur la cinétique de germination des graines de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb.

VI.3. Effet du plomb sur le taux de germination relatif (TGR) :

Les résultats correspondant au TGR montrent que l'effet du plomb à différentes concentrations : 50, 100, 150, 200 et 250 ppm, avec des valeurs respectives de 1,04, 0,9, 1, 1,14 et 0,98, ne réduit pas de manière significative ($P = 0,936$) la vitesse relative de germination des graines de *Cleome amblyocarpa*, même avec une augmentation des concentrations de nitrate de plomb (Fig. 29).

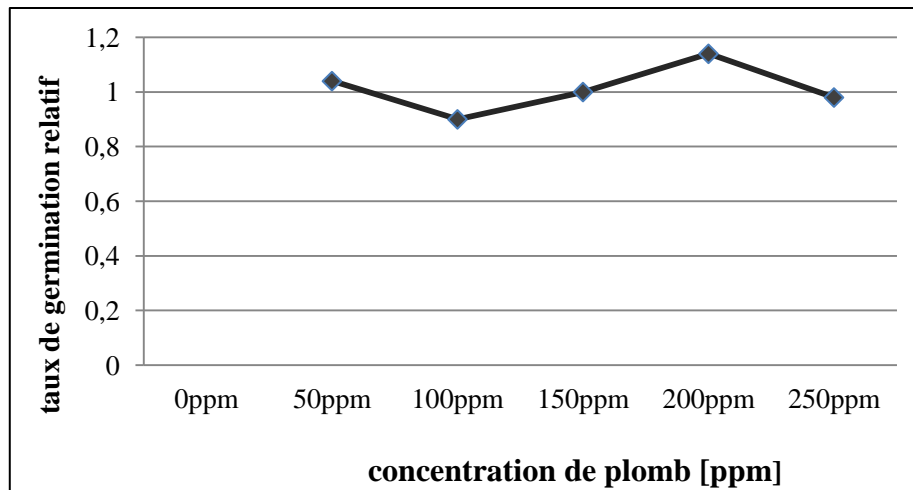


Fig. 29 : Effet du plomb (0, 50, 100, 150,200 et 250 ppm) sur le taux de germination relatif de *Cleome amblyocarpa* Barr. &Murb.

VI.4. Effet du plomb sur la longueur des racicules des plantules de *Cleome amblyocarpa* Barr. &Murb

Après 15 jours d'exposition des graines de *Cleome amblyocarpa* à des concentrations croissantes de Pb, les résultats de l'analyse statistique des longueurs des racicules révèlent une diminution très significative ($P=0,000$) pour les doses 50, 100, 150, 200 et 250 ppm de Pb par rapport au témoin. Les longueurs des racicules sont évaluées respectivement à 0,75, 0,46, 0,25, 0,15 et 0,16 cm par rapport au contrôle où la longueur maximale est estimée à 1,80 cm (Fig. 30).

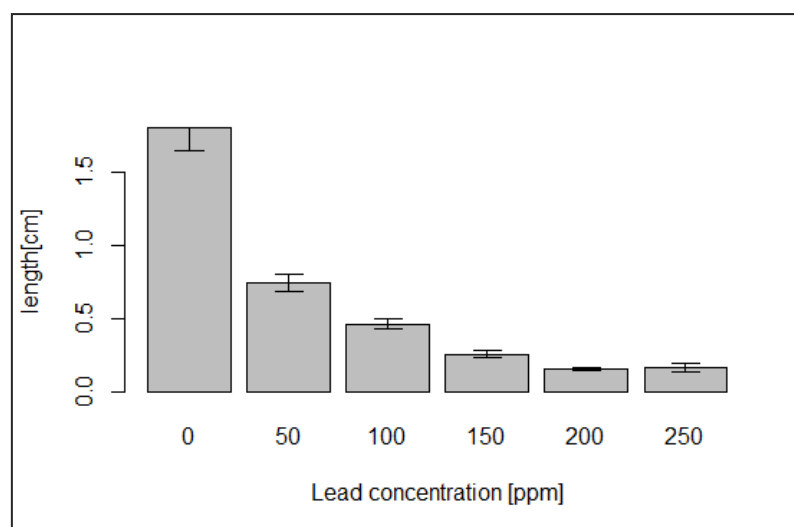


Fig. 30 : Effet du plomb (0, 50, 100, 150,200 et 250 ppm) sur la longueur des racicules des plantules de *Cleome amblyocarpa* Barr. &Murb.

VI.5. Effet du plomb sur la longueur des tiges de *Cleomé amblyocarpa* :

Par rapport au témoin, où la longueur des tiges est estimée à 2,81 cm, les plantules de *Cleome amblyocarpa* présentent une diminution de la longueur des tiges ; après 15 jours d'exposition à différentes concentrations de Pb (50, 100, 150, 200 et 250 ppm) avec des valeurs de 2,06, 1,36, 0,99, 0,73 et 0,67 cm respectivement . Ces résultats montrent que le stress métallique exerce un effet sur la croissance des tiges de *Cleome amblyocarpa*, entraînant une diminution très significative ($P < 0,001$) de la longueur de la partie aérienne en fonction de l'augmentation des concentrations de Pb (Fig. 31).

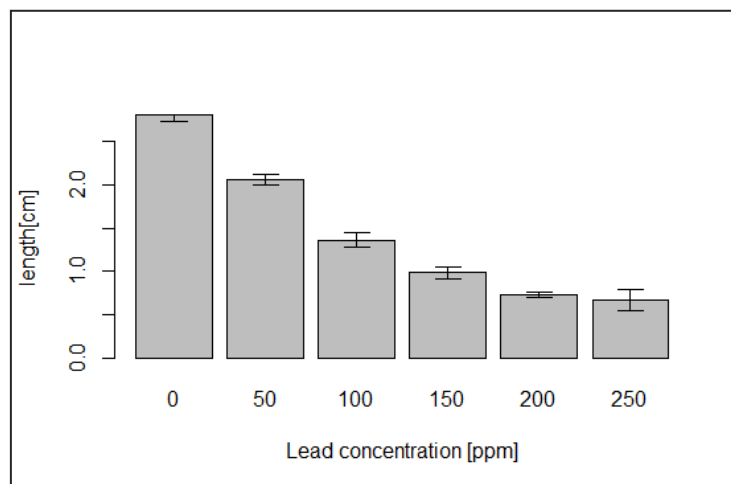


Fig. 31 : Effet du plomb (0, 50, 100, 150, 200 et 250 ppm) sur la longueur des tiges de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb.

VI.6. Effet du plomb sur le rapport racines/tiges de *Cleome amblyocarpa* :

Selon les résultats présentés à la figure 32, les graines de *Cleome amblyocarpa* traitées à différentes concentrations (0 à 250 ppm) de Pb, ont une diminution très significative de ce paramètre par augmentation de la concentration ($P = 0,000$).

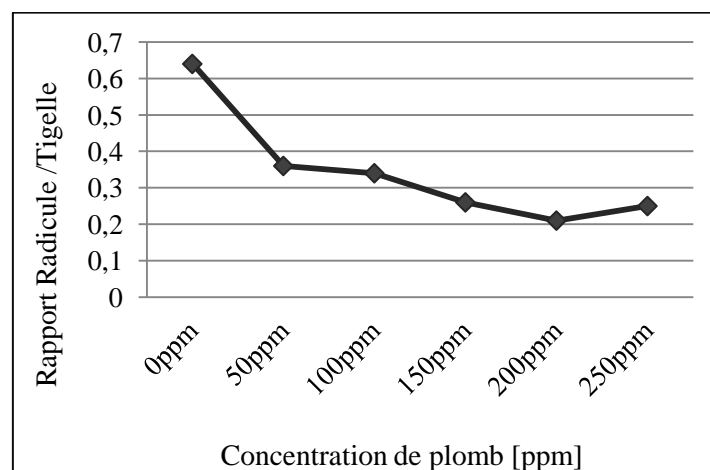


Fig. 32 : Effet du plomb sur le rapport racine/tige de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb.

VI.7. Effet du plomb sur l'indice de tolérance (I.T) de *Cleome amblyocarpa*

Les résultats montrent que la présence de Pb à différentes concentrations a un impact positif sur l'indice de tolérance (I.T) de *Cleome amblyocarpa*, entraînant une diminution très significative où la probabilité est égale ($P=0,000$). L'indice de tolérance le plus élevé de *Cleome* est obtenu dans les graines traitées à 50 et 100 ppm de Pb avec des valeurs de 42,25, 27,42 % respectivement. La diminution de ce paramètre est enregistrée dans les graines stressées à 150, 200 et 250 ppm avec des valeurs de 14,83, 8,95 et 9,23 % respectivement par rapport au témoin.

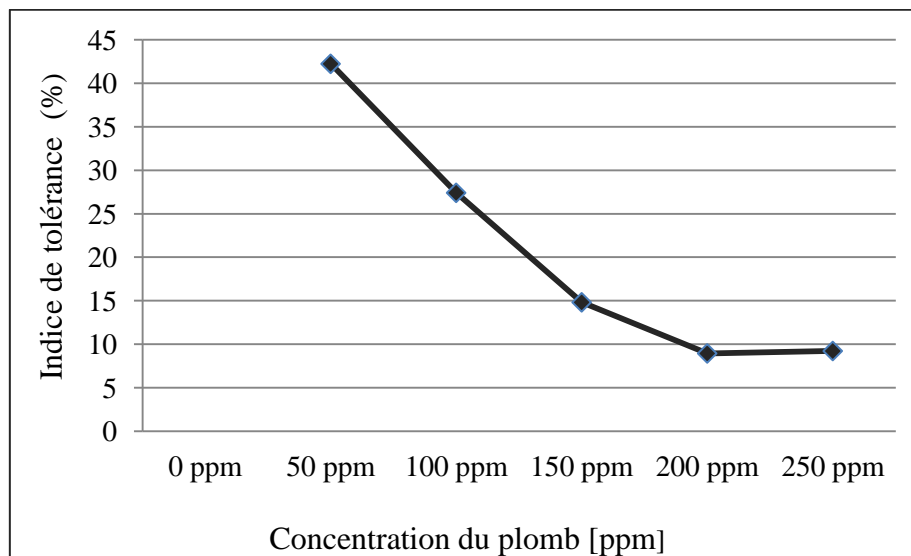


Fig. 33 : Effet du plomb (0, 50, 100, 150, 200 et 250 ppm) sur l'indice de tolérance (I.T) de *Cleome amblyocarpa* Barr. &Murb.

VI.8. Effet du plomb sur le pourcentage de phytotoxicité (P.P) du *Cléome amblyocarpa* :

Les résultats de l'effet toxique de différentes concentrations de plomb (50, 100, 150, 200 et 250 ppm) sur l'élongation des racicules du Cléome (fig.31) montrent une augmentation très significative du pourcentage de phytotoxicité (P.P) par incrément des niveaux de concentration de Pb avec une probabilité qui est égale ($P=0,000$; $P<0,05$). Les valeurs observées sont (57,75, 72,58, 85,17, 91,05 et 90,77 %) respectivement.

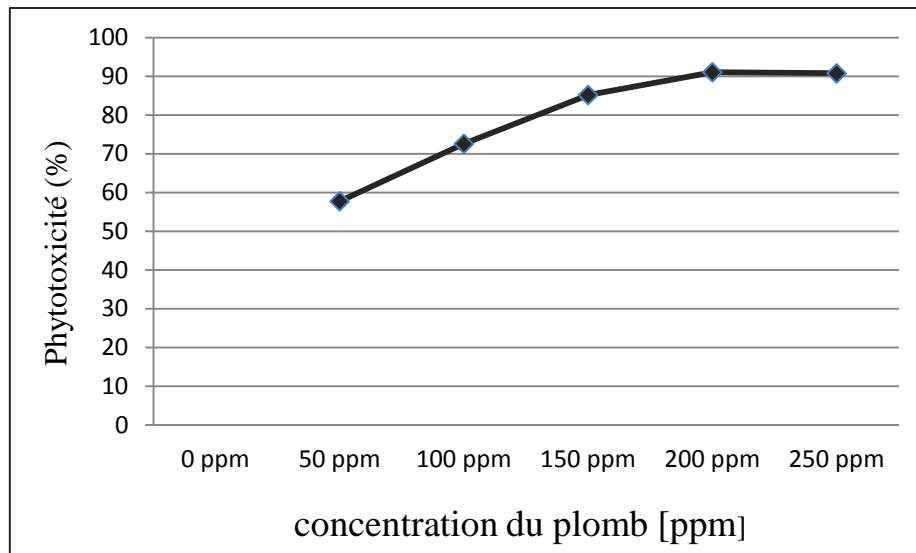


Fig. 34: Effet du plomb (0, 50, 100, 150,200 et 250 ppm) sur le pourcentage de phytotoxicité (P.P) de *Cleome amblyocarpa* Barr. &Murb.

Discussion générale

L'étude de l'effet du Pb sur le taux de germination montre une diminution non significative sur la germination des graines de *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb. Cependant, la germination des graines de *Cleome* semble être plus tolérante au Pb, même à des concentrations élevées de Pb. Les polluants métalliques présentant des teneurs élevées dans le sol (As, Sb, Pb, Cu et Cd) ont causé des dommages physiologiques plus ou moins marqués chez plusieurs espèces végétales (**Annabelle, 2012**). Les résultats de ces travaux sont résumés par **Kranner et Colville (2011)** qui affirment qu'à de fortes concentrations les métaux entraînent un déclin des taux de germination, mais cette dernière n'est jamais complètement inhibée.

L'effet négatif des métaux sur la germination des graines a été signalé par différents auteurs (**Mathur et al., 1987 ; Iqbal et Mehmood, 1991 ; Athar et Masood, 2002 ; Li et al., 2005 ; Datta et al., 2011**). Le plomb a des effets néfastes sur la germination et la maturation, même au niveau micromolaire (**Kopittke et al., 2007**). **Muhammad et al., (2008)** ont enregistré un effet toxique sur la germination des graines de *leucocephala. L* de divers traitements au plomb à 25, 50, 75 et 100 ppm. **Kalimuthu et Siva (1990)** ont constaté une réduction de la germination des semences dans le maïs (*Zea mays*) traité avec 20, 50, 100 et 200 µg mL⁻¹ d'acétate de plomb. Le taux de germination et la longueur des pousses de *Paulownia fortunei* ont généralement diminué lorsque la concentration de Pb, Zn, Cu et Cd dans les milieux de culture a augmenté. Cependant, les effets négatifs des traitements au Pb, Zn, Cu et Cd avaient une grande différence. Les traitements au Cd n'ont presque pas eu d'effets négatifs sur le taux de germination et la longueur des pousses, et les traitements au Pb ont également eu peu d'effets négatifs (**Wang et al., 2010**).

L'inhibition de la germination des graines sur sol pollué peut être due au pH extrême et à la capacité des ETM à se lier aux groupements soufrés de certains acides aminés ce qui entraînerait une inhibition de l'activité des enzymes essentielles. (**Vernay et al., 2009**).

Le traitement du blé (*Triticum aestivum*) avec du plomb à 1, 2, 5, 10 et 20 mM a réduit le processus de germination, montrant une réduction progressive de la germination avec l'augmentation de la concentration (**Hasnain et al., 1995**).

Le plomb a un effet inhibiteur dans le processus de germination des graines de nombreuses espèces végétales (**Pandey et al., 2007**). La vulnérabilité de la germination devrait être associée aux niveaux d'accumulation réelle des polluants qui interfèrent avec les voies métaboliques dans les tissus de la graine (**Mihoub et al., 2005**).

L'effet majeur du Pb est observé sur l'inhibition des enzymes de germination telles que la protéase et l'amylase qui sont synthétisées pendant la germination. La stimulation de l'activité protéasique étant l'événement amorce de la libération des acides aminés, il serait probable que les effets de Cd et Cu soient la conséquence d'une action inhibitrice, directe et/ou indirecte sur la protéolyse (Mihoub *et al.*, 2005). , Ce qui va inhiber plusieurs processus cellulaires, y compris photoinhibition dans le chloroplaste, les mécanismes de défense, la mort cellulaire programmée et la photomorphogenèse dans le développement des plantes (Estelle, 2001).

Pandey *et al.*, (2007) ont rapporté que les activités amylase et protéase diminuaient la germination des graines de *Catharan thusroseus* sous une forte concentration de Pb. Lamhamdi *et al.*, (2011) ont observé que l'activité de l'amylase dans les graines de blé était réduite avec l'augmentation du niveau de Pb. Cette inhibition pourrait montrer que les ions de plomb remplacent les ions de calcium qui sont essentiels pour les activités de ces enzymes (Lamhamdi *et al.*, 2011).

Le plomb exerce un effet sur la croissance des racicules et des tigelles de *Cleome amblyocarpa* Barr.& Murb entraînant une diminution très significative, Ces résultats sont en accord avec ceux de Hamad (2019) où l'analyse statistique montre que la longueur des racicules et des tigelles de *Moringa oleifera* L diminue très significativement ($P < 0,001$) en fonction de l'augmentation des doses de plomb appliquées.

Le plomb a un effet inhibiteur plus important sur le développement de des plantules. Cette observation indique une toxicité des ETM plus élevée dans les racicules, caractéristique confirmée par les travaux de Prasad et Hagemeyer (1999), Par ailleurs, cette inhibition de croissance peut être causée par une carence en phosphore (Desnos, 2008 ; Lou *et al.*, 2010), un élément essentiel qui intervient dans les mécanismes d'élongation cellulaire (Reymond *et al.*, 2006) et dans l'activité du méristème (Jain *et al.*, 2007).

Les résultats dégagés de la présente étude sont cohérents avec ceux cités par Kranner & Colville (2011), confirmant l'inhibition de la croissance raculaire chez plus de 15 espèces végétales en présence de concentrations croissantes de métaux (Cr, Cd, Cu, Zn, Pb, Ni et Hg). L'analyse de l'action spécifique des métaux sur la cinétique de croissance raculaire montre que, pendant la phase d'élongation, le cadmium inhibe significativement la croissance. Cette inhibition est d'autant plus importante que les concentrations en Cd sont en augmentation ce résultat corrobore ceux trouvés par Weiqiang *et al* (2005) montrant que les concentrations en Cu, Pb, Zn et Hg, qui entraînent une inhibition de la croissance des racicules d'*Arabidopsis*

thaliana, n'inhibent pas la germination, contrairement au Cd qui inhibe la germination et la croissance racinaire à des concentrations similaires. **revue ecole**

Une forte teneur en plomb inhibe la croissance des racicules (**Obroucheva et al., 1998**). Sur de longues périodes, les traitements au plomb, même à des doses non létales, peuvent entraîner le développement d'une nécrose au niveau des apex des racicules (**Khan et Frankland, 1983 ; Liu et al., 2000**).

La croissance racinaire est plus sensible aux métaux que la germination (**Fatarna et al., 2017**), à cause de la présence de plomb dans le milieu (**Islam et al., 2008**).

Cette sensibilité s'est réduite par suite du rapport racicules / tigelles. **El rasafi et al., (2016)** ont signalé que la diminution du rapport racicules/tigelles peut être due à des changements structurels et morphologiques des racines (absence de poils sur les racines, croissance rabougrie et fibreuse des racines et épaissement ou brunissement des racines) induits par le métal.

L'indice de tolérance examiné est faible à 150, 200 et 250 ppm par rapport au contrôle. L'augmentation des concentrations de Pb a entraîné une diminution significative de la tolérance à la toxicité du plomb de *Cleome amblyocarpa* Barr. &Murb. La raison de cette faible tolérance au plomb pourrait être due à des changements dans le mécanisme physiologique de la germination des graines et de la croissance des plantules (**Shafik et al., 2008**). **Shafiq et Iqbal (2005)** ont rapporté des résultats similaires pour la faible tolérance des plantules de *Cassia siamea* à 100 ppm de traitement au plomb par rapport au contrôle. L'augmentation des concentrations de Cd et de Zn a entraîné une diminution significative de la tolérance à la toxicité des métaux des plants de haricots (*Phaseolus vulgaris L.*) et de blé (*Triticumaestivum L.*) (**El rasafi et al., 2016**).

D'autre part, le paramètre de phytotoxicité du plomb indique que les concentrations les plus faibles de Pb induisent une diminution de la phytotoxicité, tandis que les niveaux élevés de Pb augmentent la phytotoxicité des racicules de *Cleome amblyocarpa* Barr. &Murb. Selon **Fernandes et Henriques (1991) et Woolhouse (1983)**, pour tout processus physiologique ou métabolique, ce sont les seuils critiques de phytotoxicité, définis en termes d'accumulation tissulaire, qui déterminent la sensibilité aux métaux lourds. **Revue ecole. El rasafi et al. (2016)** ont rapporté que l'augmentation des niveaux de Cd augmentait significativement le pourcentage de phytotoxicité sur la longueur des racines de haricots (*Phaseolus vulgaris L.*) et de blé (*Triticum aestivum L.*), le pourcentage de phytotoxicité le plus faible étant observé à la concentration la plus faible (14,92 et 44,58%) pour le blé et le haricot, respectivement. En ce

qui concerne le Zn, les faibles doses (de 10 à 100 mg/l) étaient plus bénéfiques pour la croissance du blé, tandis que les niveaux les plus élevés étaient très toxiques pour les racines. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Gang *et al.*, (2013)**, **Habtamu *et al.*, (2013)** et **Shaikh *et al.*, (2013)** qui ont signalé que la phytotoxicité des métaux lourds sur les racines diminuait à des concentrations plus faibles et augmentait à des concentrations plus élevées.

En général, le plomb est l'un des métaux lourds qui cause de multiples effets sur le développement et la morphologie des espèces végétales (**Bhushan et Gupta, 2008 ; Islam *et al.*, 2008 ; Shafiq *et al.*, 2008 ; Aydinalp et Marinova, 2009 ; Farooqi *et al.*, 2009 ; Heidari et Sarani, 2011**).

Conclusion
&
Perspectives

Conclusion et perspectives

Conclusion :

Notre mémoire s'inscrit dans le cadre général de la phytoremédiation. Il a eu pour objectif la caractérisation des paramètres de la germination des graines et la caractérisation de la croissance du *Cleome amblyocarpa* Barr. & Murb sous stress métallique, et sur l'évaluation des capacités de tolérance et de défense de ce dernier pour être utilisé dans la dépollution des sols contaminés.

Le plomb pose actuellement des problèmes importants en matière de contamination de l'environnement. Les plantes, du fait de leur immobilité, sont particulièrement vulnérables à l'effet délétère de ce contaminant.

Ces dernières années, le développement de techniques efficaces pour décontaminer les sites pollués est devenu indispensable. L'une d'elle, la phytoremédiation qui exploite les propriétés de certaines plantes à tolérer et accumuler de grandes quantités de métaux lourds.

La germination des graines est un ensemble de processus métaboliques aboutissent à l'émergence de la radicule. Ce stade de développement est considéré comme une étape critique dans l'établissement des semis et ainsi la détermination d'une production agricole réussie.

Cette étude consiste à déterminer l'impact du plomb à différentes doses (0, 50, 100, 150, 200, 250 ppm) sur la cinétique du taux de germination et l'élongation des racines et des tiges des graines, Cinétique de germination, indice de tolérance (I.T.), Pourcentage de phytotoxicité (P.P.) de *Cléome amblyocarpa* Barr. & Murb, car la germination est la première étape du développement des plantes dans des milieux contaminé par ce métal.

Les résultats obtenus indiquent que l'exposition les graines du *Cléome amblyocarpa* Barr. & Murb, à différentes doses du plomb affecte son processus germinatif, qui se traduit par une diminution non significative du taux de germination des graines traités par le plomb à différentes concentrations par rapport au témoin où le taux de germination est égale 55%, car le plomb a un effet inhibiteur dans le processus de germination des graines de nombreuses espèces végétales. L'effet majeur du Pb est observé sur l'inhibition de la germination des enzymes telles que la protéase et l'amylase qui sont synthétisées pendant la germination, cette inhibition pourrait montrer que les ions plomb remplacent les ions calcium qui sont essentielles pour les activités de ces enzymes. D'après ces résultats, nous pouvons déduire que *Cléome amblyocarpa* Barr. & Murb a une forte potentialité vis-à-vis au stress métallique.

Conclusion et perspectives

Perspectives :

Notre travail de mémoire laisse entrevoir de nombreuses perspectives d'expérimentations :

- ❖ Dans un premier temps et dans la continuité directe de cette étude, Il est nécessaire d'effectuer l'effet du plomb sur les paramètres chimiques, anatomiques de *Cléome amblyocarpa* pour comprendre les mécanismes de toxicité du plomb mais également ceux de tolérance à ce métal.
- ❖ Il sera important aussi de tester les capacités de tolérance du *Cléome amblyocarpa* à d'autres métaux (Cd, Zn, Ni, Cu...), car il est rare qu'un milieu soit pollué par un seul métal. De plus un phénomène de compétition entre les différents éléments métalliques pourra se produire permettant de déterminer les « préférences » de la plante.
- ❖ Il serait indispensable de faire d'autres études pour l'identification des gènes responsables de la tolérance au stress métallique.
- ❖ Une expérimentation directe de *Cléome amblyocarpa* sur des sites pollués exemple « friches industriels, zones de décharge public et station d'épuration » serait nécessaire pour se rapprocher d'avantage des conditions naturelles dont l'objectif est de proposer le Cléome comme plante phyto-rémediatrice afin de dépolluer et réhabiliter les sites pollués par les métaux lourds en Algérie.
- ❖ Il serait en effet intéressant d'analyser l'évolution de l'activité des enzymes impliqué dans la réponse au stress métallique.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Abdel-Kader MS, Alqasoumi SI , Al-Taweel AM (2009). Hepatoprotective constituents from *Cleome droserifolia*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 57(6), 620-624.
- Abdel Kawy MA, El-Deib S, ElKhyat Z, Mikhail YA (2000). Chemical and biological studies of *Cleome droserifolia* (Forssk.) Del. Part-I. *Egypt Journal Biomedicine Science*, 6, 204.
- Adriano DC(2001): Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of metals. Springer-verlag, New York, USA. 867p.
- ADTSDR (2007). Toxicological profile for lead, US. Department of health and human services. Public health service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry ; 582p
- Afnor (1996). NF ISO 10390-Indice de classement: X31-117. Qualité du sol. Détermination du pH. Paris, France. p12
- Ahmed S, Sultana M, Ul hasan, MM, Azhar I (2011). Analgesic and antiemetic activity of *cleome viscosa* l. *Pakistan Journal of Botany*, 43, 119-122.
- Alkorta A , Haliez L and BaninA (2004) . Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide, 4-31 - In-situ biological treatment/Phytoremediation Alloway BJ(1995). *Heavy Metals in Soils*. Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, London, p 368
- Ann Peer W (2005) Phytoremediation and hyperaccumulator plants. *Topics Curr. Genet*, p100
- Anju M, Banerjee DK (2012) Multivariate statistical analysis of heavy metals in soils of a Pb-Zn mining area, India. *Environmental Monitoring and Assessment* 184: 4191-4206.
- Anzala FJ(2006). Contrôle de la vitesse de germination chez le maïs (zeamays) : étude de la voie biosynthèse des acides aminés issus de l'aspartate et recherche de QTLs. Thèse de doctorat. Université d'Angers.148p.
- Ashfaque F , Inam, A , Sahay S, Iqbal S (2016). Influence of heavy metal toxicity on plant growth, metabolism and its alleviation by phytoremediation- A promising technology. *J. Agric. Ecol. Res. Int.* 6, 1–19

- Aoumeur H (2012) The stressful effect of lead on radish growth *Rapahnus sativus* (L.) physiological, biochemical response and potential phytoremediation efficiency. Doctoral thesis. University of Oran 1, Algeria..
- Aparadh VT, Mahamuni RJ. and Karadge BA(2012). Taxonomy and Physiological Studies in Spider Flower (*Cleome* species): A Critical Review. *Plant Sciences Feed*, 2(3), pp 25- 46.
- Athar R, Masood A (2002) Heavy metal toxicity: Effect on plant growth and metal uptake by wheat, and on free living *Azotobacter*. *Water Air Soil Pollut.*, 138, 165–180. DOI: 10.1023/A:1015594815016
- Annabelle Austruy. Aspects physiologiques et biochimiques de la tolérance à l'arsenic chez les plantes supérieures dans un contexte de phytostabilisation d'une friche industrielle. Sciences agricoles. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2012
- Baba Ahmed A(2012).Etude de contamination et d'accumulation de quelques métaux lourds dans des céréales, des légumes, des sols agricoles irrigués par des eaux usées de la ville de Hammam Boughrara, Thèse de magistère, p56.
- Baba Aissa F (2011). Encyclopédie des plantes utiles. El maarifa (Ed) Alger, 471.
- Baize D (1997). "Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). " INRA
- Baize et Sterckeman T (2001). Importance de la détermination du fond pédogéochimique pour évaluer la pollution des sols par des métaux. L'exemple du site de Dornach. Rencontre nationale de la recherche sur les sites et sols pollués. Paris. ADEME, p6
- Baize D (2002).Examen critique des valeurs limites "sols" de la réglementation française. In Un point sur les éléments traces métalliques dans les sols approches fonctionnelles et spatiales. Editions INRA . Paris, p565
- Baker AJM, Walker PL (1990) Ecophysiology of metal up take by tolerant plants. In J.Shaw (Ed). *Heavy Metal Tolerance in plants: Evolutionary aspects*. CRC Press, Boca Raton
- Baker P A J, Morel J L, Schwartz C (1997). Des plantes pour dépolluer les friches industrielles. *Biofutur* (169), 30–33
- Florida, p155-178.*

- Bala A, Kar B, Haldar PK, Mazumder K, Bera S (2010). Evaluation of anticancer activity of *Cleome gynandra* on Ehrlich's Ascites Carcinoma treated mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 129(1), 131-134
- Bayard P (1991), Etude de la germination des semences de 6 espèces herbacées en fonction du régime hydrique, DEA d'agrochimie, Université de Grenoble I, 28 p
- Bazzaz FA, Carlson RW, Rolfe GL (1975). "Inhibition of Corn and Sunflower photosynthesis by lead. " *physiologia plantarum* 34 :326-329
- Bennaoum A, Reguieg YHA, Nouri T, Ferrah N, Benaichata L, Hamad H, Neggaz N (2019) Effect of uranium on seed germination of *Cleome amblyocarpa* barr. & murb. *Plant Archives* Vol. 19 No. 2, 2019 pp. 3805-3810
- Bert V (2013). Les phytotechnologies appliquées aux sites et sols pollués ; Etat de l'art et guide de mise en oeuvre. EDP * Science éd. s.l.ADEME.
- Bert V (2012). Les phytotechnologies appliquées aux sites et sols pollués: Etat de l'art et guide de mise en oeuvre. EDP Sciences, ADEME, Paris, 86 p
- .Berti W R et Cunningham S D (1995) .Sequentiel chemical extraction of trace elements: Development and use in remediating contaminated soils. Conference on the biochemistry of trace elements, Paris.
- Bes C (2008). Phytoremédiation des sols d'un site de traitement du bois contaminés par le cuivre. Thèse de Doctorat. Univ Bordeaux 1 Ecole Doctorale des Sciences et Environnements
- Bewley JD et Black M(1994). Seeds: physiology of development and germination. Peplum Press, New York (NY) 445P.
- Bewley JD (1997) Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9: 1055-1066
- Bisson M, Bureau J, Houeix N, Jolibois B, Gay G, Lefevre JP, Tack K (2012) Manganèse et ses dérivés - fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. INERIS.
- Brahim R(2017).effet de la salinite sur la germination *niebevignaungiculatasubspungiculata* (l.) Walp.p6.-19-20-21-25
- Bouriche H, Miles EA , Sellouma L, Calder PC (2005). Effect of *Cleome arabica* leaf extract, rutin and quercetin on soybean lipoxygenase activity and on generation of inflammatory eicosanoids by human neutrophils. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 72, 195–201.

- BRGM (2004). "Guide méthodologique du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués. Rapport final, BRGM/RP-52881-FR".
- Bourrelier P and J Berthelin (1998). "Contamination des sols par les éléments traces : les risques et leur gestion." Rapport de l'Académie des sciences Ed. Lavoisier, Paris. 42 pp
- Bouriche H, Selloum L, Tigrine C & Boudoukha C (2003). Effect of *Cleome arabica* leaf extract on rat paw edema and human neutrophil migration. *Pharmaceut. Biol.*, 41: 10-15
- Bouriche H & Arnhold J (2010). Effect of *Cleome arabica* leaf extract treated by naringinase on neutrophil degranulation. *Acta Hort.*, 854: 15-22.
- Brunet J, Reppelin A, Varrault G, Terryn N et Zuily-Fodil Y (2008). "Lead accumulation in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus* L.)". *C.R. Biologies* 331 : 859-864.
- Chaignon V (2001), Biodisponibilité du cuivre dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées. Cas des sols viticoles contaminés par des fongicides. Thèse: Ecole doctorale, Sciences de l'Environnement: Système Terre, Université d'Aix-Marseille.
- Chatterjee C, Dube B K, Sinha P & Srivastava P (2004). Detrimental effects of lead phytotoxicity on growth, yield and metabolism of rice. *Soil Science and Plant Analysis*, 35, 255-265.
- Chaudhry TM, Hayes W.J, Khan A.G, Khoo C.S. (1998) Phytoremediation - Focusing on accumulator plants that remediate metal-contaminated soils. *Austral. J. of Ecotoxicol*, p 37.
- Chaussat R, Ledunff Y (1975). La germination des semences. Ed. Bordars, Paris, 232p.
- Cecchi M (2008). Devenir du plomb dans le système sol- plante. Cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (Fève et Tomate). Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse. 215 : 12-35.
- Chen J, Zhu C, Li LP, Sun ZY et XB (2007). "Effects of exogenous salicylic acid on growth and H₂O₂-metabolizing enzymes in rice seedling under lead stress." *Journal of Environmental Sciences* 19 :44-49
- Cheng C, Motohashi R, Tsuchimoto S, Fukuta Y, Ohtsubo H, Ohtsubo E (2003). Polyphyletic origin of cultivated rice: based on the interspersed pattern of SINES. *Mol.*

- Chaffai R , Koyama H (2001) Heavy metal tolerance in *Arabidopsis thaliana*, *Adv. Bot. Res.* 60 1-49.
- Colombano A, Guerin V, Bataillard p, Bellenfant G, Beranger S, Hube D, Blanc C. et Zornig c.and Girardeau I (2010). *Quell techniques pour quel traitements-Analyse couts-bénéfices (Rapport final BRGM1RP-58609-FR).* bureau de recherches géologiques et minières (BRGM), 403.
- Côme D(1982). Germination. In: Mazliak P, editor. *Croissance et développement. Physiologie végétale. II.* Paris: Hermann; pp. 129–225.
- Chopra RN, Nayar SL and Chopra IC(1992) .*Glossary of Indian Medicinal Plants.*), New Delhi: Publication and Information Directorate, Coucil of Industry and Reseach
- Chou Ch.-H, Lin HJ (1976) Autointoxication mechanism of *Oriza sativa* (L.) Phytotoxic effects of decomposing rice residues in soil. *J. Chem. Ecol.*, 2, 353–367.
- Cuny D (2012). La biosurveillance végétale et fongique de la pollution atmosphérique : concepts et applications. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 70(4)
- Clarkson D T , Lüttge U (1989), Mineral nutrition divalent cations,transport and compartimentation, *Prog. Bot.* 51 93–112
- Datta JK, Bandhyopadhyay A, Banerjee A, Mondal NK (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>
- Décret exécutif n°14-96 du 2 Joumada El Oula 1435 correspondant au 4 mars 2014 modifiant et complétant le décret exécutif n° 11-125 du 17 Rabie Ethani 1432 correspondant au 22 mars 2011 relatif à la qualité de l'eau de consommation humaine.
- Deneux-Mustin S, Roussel-Debet S, Mustin C, Henner P, Munoe-Lamy C, Colle C. Berthelin J, Garnier-Lapalace J, Leyval C(2003). *Mobilité et transfert racinaires des éléments en traces : influence des micro-organismes du sol.* TEC & DOC, Paris.
- Dorne AJ (1977) Analysis of the germination under laboratory and field conditions of seeds collected in the Kerguelen Archipelago. In: Llano GA (ed) *Adaptations within Antarctic ecosystems.* 3rdSCAR Biology Symposium. Smithsonian Institute, Washington, DC, pp 1003—1013
- Darmendrail D (2001) Typologie des sites et sols pollués. *Géologues*, 128 : 13-14
- Drazkiewicz M (1994). "Chlorophyll-occurrence, functions, mechanism of action, effects of internal and external factors. " *Photosynthetica* 30 : 321-331.

- Dudal Y (2004) Accounting for natural organic matter in aqueous chemical equilibrium models: a review of the theories and applications. *Earth-Science Reviews* 66: 199-216.
- Dumat C, Chiquet A, Goody D, Aubry E, Morin G, Juillot F, Benedetti M(2001). Metal ion geochemistry in smelter impacted soils and soil solutions. *Bulletin de la Société Géologique de France* 172: 539-548.
- Eranen JK , Kozlov MV (2007). Competition and facilitation in industrial barrens: Variation in performance of mountain birch seedlings with distance from nurse plants. *Chemosphere* 67: 1088-1095.
- Elichegaray C , Bouallala S , Maitre A , et Ba M (2010). État et évolution de la pollution atmosphérique. *Revue Française d'Allergologie*, 50(4), 381–393.
- El-Shenawy NS, Soliman FM, Abdel-Nabi I M (2006). Does *Cleome droserifolia* have anti-schistosomiasis *mansoni* activity?. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 48, 223–228.
- Elmsley J. (2001). *Nature's Building Blocks.A-Z guide to the elements*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- 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)*, Vol. 35, No. 3, p. 213–223
- Farjam MH, Joukar, M, Ranjbar F. (2014). Antimicrobial, Antifungal and Antioxidant Activity Evaluation of Various Organic Solvent Extracts of *Cleome Turkmena* Bobrov. *Advances in Environmental Biology*, 8(24), 152-155.
- Favas P (2014). *Phytoremediation des sols contaminés*, Universidade de Trás-os-Montes et Alto Douro Vila Real, Portugal.
- Facchinelli A, Sacchi E , Mallen L (2001) Multivariate statistical and GIS-based approach to identify heavy metal sources in soils, *Environ. Pollut.* 1143 313-324.
- Ferrand E, Dumat C, Leclerc-Cessac E et Benedetti M (2006). Phytoavailability of zirconium in relation to its initial added form and soil characteristics. *Plant Soil* 287: 313-325.
- Freitas H, Prasad MNV et Pratas J (2004). Plant community tolerant to trace elements growing on the degraded soils of Sao Domingos mine in the south east of Portugal: environmental implications. *Environment International* 30: 65-72

- Finch-Savage WE. and Leubner-Metzger G. (2006) Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol.* 171: 501-523.
- Foreau B, Mauboussin T (2009) Métal Blanc - Bourg-Fidèle (08) Interprétation de l'état des milieux. ArcaGée.
- Foy CD, Chaney RL et White MC (1978). "The Physiology of Metal Toxicity in Plants. " *Annual Review of Plant Physiology* 29 :511-566
- Fushiya S, Kishi Y., Hattori K, Batkhuu J, Takano F, Singab ANB, Okuyama T (1999). Flavonoids from *Cleome droserifolia* suppress NO production inactivated macrophages in vitro. *Planta Medica*, 65(05), 404–407
- Fernandes J C et Henriques F S (1991). Biochemical, physiological and structural effects of excess copper in plants. *Bot. Rev.*,57: 246-273
- Garnaud J. Mouchel G. Chebbo D. Thévenot(2001). Caractérisation des retombées atmosphériques de métaux traces en milieu urbain. *Techniques Sciences Méthodes*, 5 :30–39, 2001. 30, 106, 107, 114p.
- Gang A, Vyas A, Vyas H (2013) Toxic effect of heavy metals on germination and seedling growth of wheat. *J. Environ. Res. Develop.*, 8(2), 206–213
- Garnier R (2005). Toxicité du plomb et de ses dérivés, EMC (Elsevier Masson SAS) Pathologie Professionnelle et de l'Environnement; p. 67-88.
- .Girard MC, Walter C, Rémy JC, Berthelin J, Morel JL (2011) *Sols et environnement - 2e édition*. Dunod. Paris, France.
- Gopal R et Rizvi AH (2008). "Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients radish. " *Chemosphere* 70 :1539-1544
- Goudjala Y, Toumatiaa O, Yekkoura A, Sabaoua N, Mathieuc F, Zitounia A (2014). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomatoplant growth by endophytic actinomycetes isolated from nativeplants of Algerian Sahara. *Microbiological Research*, 169, 59– 65
- Hamad H, Reguieg YHA, Nouri T, Ferrah N, Benaichata L, Bennaoum A , Neggaz N (2019) Effect of lead on the germination of *Moringa oleifera l.* Seeds. ***Plant Archives*** Vol. 19, Supplement 2, 2019 pp. 1597-1602
- Hasnain SH, Saleem F, Sari N (1995) *Biotechnology for Environment and Agriculture*. University of Karachi, Karachi, Pakistan
- Habtamu A, Derara A, Tesfaye F (2013) Effect of copper and zinc on seed germination, phytotoxicity, tolerance and seedling vigor of tomato *Lycopersicon*

- esculentum (L.) cultivar Roma VF. International Journal of Agricultural Science Research,2(11),312–317. <http://academeresearchjournals.org/journal/ijasr>
- Heller R, Esnault R, Lance C(2006). Physiologie Végétale. Développement (6^eédition de l'abrégé). Editions Dunod : Paris ; 366 p.
 - Henry P (1951).La germination des graines d'ElaeisIn: Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale, 31^e année, bulletin n°349-350, Novembre-décembre. pp. 565-591.
 - Hinsinger P (1996). Mobilisation of phosphates rock and alumina-sorbed phosphate by roots of ryegrass and clover as related to rhizosphere pH. European Journal of Soil Science 47: 53-544
 - Huynh M (2009). Impacts des métaux lourds sur l'interaction plante / ver de terre / microflore tellurique; thèse de Doctorat. Université Paris Est 169 p.
 - Iqbal MZ, Rahmati K (1992) Tolerance of Albizia lebbeck to Cu and Fe application. Ekologia (ČSFR), 11, 427–430
 - Iqbal MZ, Mehmood T (1991) Influence of cadmium toxicity on germination and growth of some common threes. *Pak. J. Sci. Ind. Res.*, 34, 140–142
 - Islam E, Yang X, Li T, Liu D, Jin X, Meng F (2007) Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. *J Hazard Mater* 147:806–816
 - Jaishankar M , Tseten T , Anbalagan N , Mathew B , Beeregowda K N (2014) Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals, *Interdiscip. Toxicol.* 7
 - Jeannot R, Lemièrre B, Chiron S, Augustin F et Darmendrail D (2001). Guide méthodologique pour l'analyse des sols pollués, Ed : BRGM p 19.
 - Joseph M, Ramani VincentA, Charles A (2014). The anticancer activity of ethanolic extract of *Cleome felina* linn. *Journal of Pharmacy Research*, 8(9), 1223-1225.
 - Kabata-Pendias (2001).Trace Elements in Soils and Plants, Third Edition CRC Press, Boca Raton, USA.
 - Kassam A H (1981) Climate, soil and land resources in West Asia and North Africa. *Plant Soil.* 58:1-28
 - KhafagiIK, Dewedar A (2000). The efficiency of random versus ethno-directed research in the evaluation of Sinai medicinal plants for bioactive compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, 71, 365–376

- Kirtikar KR, Basu BD (1987) In: Indian Medicinal Plants, Vol. I, 2nd ed Dehradun: International Distributors.
- Kopittke PM, Colin JA, Kopittke RA, Menzies (2007). Toxic effects of Pb²⁺ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). Environmental Pollution, in press.
- Kumar, Srinibas. Types de germination des semences (avec diagramme).”Discussion de biologie 26 octobre 2015
- Kalimuthu K, Siva SR (1990) Physiological effects of heavy metals on *Zea mays* (maize) seedlings. Indian J. Plant Physiol. 33: 242-244
- Kopittke PM, Asher CJ, Kopittke RA, Menzies NW (2007) Toxic effects of Pb²⁺ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). Environ Pollut 150:280–287
- Kranner I, Colville L (2011). Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. Environ. Exp. Bot., 72: 93-105.
- Ladhari A, Omezzine F, DellaGreca M, Zarrelli A, Zuppolini S, Haouala R (2013). Phytotoxic activity of *Cleome arabica* L and its principal discovered active compounds. South African Journal of Botany, 88, 341–351.
- Lamb DT, Ming H, Megharaj M, Naidu R (2010). Phytoextraction and accumulation of lead in Australian native vegetation Arch Environ Contamin Toxicol. 58 (3) : 613-621
- Lone M I, He Z, Stoffella P J, Yang X (2008) Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: Progresses and perspectives. J. Zhejiang Univ.
- Le floc’he (1983) : Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Publication scientifiques tunisiennes. Programme flore et végétation tunisienne. Deuxième partie. 402 p
- Li Y, Cichocki A, Amari S (2004). Analysis of Sparse Representation and Blind Source Separation. Neural Computation, 16(6), 1193–1234
- Li W, Khan MA, Yamaguchi S, Kamiya Y (2005) Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. Plant Growth Regul., 46, 45–50. doi : 10.1007/s10725-005-6324-2
- Liu D, Jiang W, Liu C, Xin C, Hou W (2000). "Uptake and accumulation of lead by roots, hypocotyls and shoots of Indian [*Brassica juncea* (L.)]. "Bioresource Technology 71 :273-277.
- Loué A (1993). Oligo-Éléments en Agriculture. SCPA, Nathan, Paris, P 577

- Louise, Hénaul-Ethier(2016).ResearchGate phytoremédiation , Société québécoise de phytotechnologie -info@phytotechno.com2030, Boul. Pie-IX, bureau 403, Montréal(Québec).
- Madi A,(2018)thèse de doctorat : Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de Cleome arabica. Universite des freres Mentouri. Constantine
- Makowski E, Kita A, Galas W, Karcz W, Kuperberg JM (2002). "Lead distribution in corn seedlings (*Zea mays* L.) and its effect on growth and the cocentration of potassium and calicium." *Plant Growth Regulation* 37 :69-76
- Mazliak P (1982). *Physiologie végétale croissance et développement*. Tome3 Ed. Hermann éditeurs des sciences et des arts collecte méthodes. Paris,420p.
- McKenzie RM (1980). The adsorption of Lead and other heavy metals on oxides of Manganese and Iron. *Aust, J. Soil. Res.* 18 61-73.
- .Meagher RB (2001) Pink water, green plants and pinks elephants. *Nature Biotechnology* 19, 1120-1121.
- Mench M, Vangronsveld J, Lepp N, Bleeker P, Ruttens A, Geebelen W (2005). Phytostabilisation of metal - contaminated sites. Pages 109-190 in T. N. Springer, editor., *Phytoremediation of metal – contaminated soils*. Echevarria G., Morel J. L., Goncharova N. (Eds), Trest, Czech Republic
- Mench M, Lepp V, Bert JP, Schwitzguébel S, Gawronski P, Schröder J, Vangronsveld (2010). *Journal of Soils and Sediments*, 10, 1039-1070.
- Mineau H, Puech S(1987)., Le mode de germination des diaspores et la resistance des plantes á la sécheresse estivante, chez quelques espèces herbacées colonisatrices de talus routiers. *Ecologia Medit.*, XIII: 43-51.
- .Miquel MG(2001). Les effets des metaux lourds sur l'environnement et la sante, rapport de l'office parlementaire des choix scientifiques (Sénat).
- Mishra A, Choudhuri MA (1998). " Amelioration of lead and mercury effects on germination and rice seedling growth by antioxidants. " *Biologia plantarum* 41 :469-473.
- Mihoub A.,Chaoui A et El farjanie E (2005) Changements biochimiques induits par lecadmium et le cuivre aucours de la germination des graines de petit pois (*Pisum sativum*L.). *C. R. Biol.*, 328: 33-41.

- M. Greger, S. Lindberg (1987) Effects of Cd²⁺ and EDTA on young sugar beets (*Beta vulgaris*). II. Net uptake and distribution of Mg²⁺, Ca²⁺, and Fe²⁺/Fe³⁺, *Physiol. Plant.* 69 81–86
- Muhammad S, Iqbal M Z, Mohammad A (2008) Effect of lead and cadmium on germination and seedling growth of *Leucaena leucocephala*. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* Vol. 12(2) 61 - 66
- Moffat AS (1995). Plants proving their worth in toxic metal cleanup. *Science* (Washington, DC) 269 : 302-303.
- Moise J A , Han S , Gudunaite-Savitch L, Johnson D A et Miki B L A (2005).— Seed coats: structure, development, composition, and biotechnology. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 41: 620-644.
- Molino P (2005)., A guide to medicinal plants in North Africa. ISBN, Malaga.
- Morel GM(1996). Producing virus- free cymbidiums. *American Orchid Society Bulletin*.29
- Morel JL(1997). Bioavailability of Trace Elements to Terrestrial Plants. Tarradellas J Bitton D. (Eds), *J. Soil ecotoxicology*. CRC. Lewis Publishers, Boca Raton. 6 . 141-175
- Morel JL(2010). Stratégies de remédiation des sols pollués. *Académie Lorraine des Sciences. Journal of Soils and Sediments*, 10, 1039-1070.
- Moyo M, Amoo SO, Ncube B, Ndhlala AR, Finnie JF, Van Staden J(2013). Phytochemical and antioxidant properties of unconventional leafy vegetables consumed in southern Africa. *South African Journal of Botany*, 84, 65–71.
- Narendhirakannan RT., Subramanian S, Kandaswamy M (2007). Anti-inflammatory and lysosomal stability actions of *Cleome gynandra* L. studied in adjuvant induced arthritic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 45 ,1001-1012.
- Nokes J(1986). How to grow native plants of Texas and the Southwest. *Texas Monthly Press* , Austin Texas .
- Nriagu JO (1989). A global assessment of natural source of atmospheric trace metals. *Nature*; 338: 47-49
- O M S(1978): Plomb, critères d'hygiène de l'environnement. *Rapp. P.N.U.E.*, 172p.
- Ozenda P., (1991): Flore de sahara (3 édition mise à jour et augmentée) Paris, Editions du CNRS, 662p. + cartes
- Ozenda P (1991). Flore et végétation du Sahara. Edition CNRS (Paris), 662.

- Ozenda P(2006). Les végétales organisations et diversité biologique 2ème édition, 383p.
- Parimala devi B, Boominathan R, Mandal S C (2002). Evaluation of anti-diarrheal activity of *Cleome viscosa* L. extract in rats. *Phytomedicine*, 9(8), 739-742
- Pandey S, Gupta K, Mukherjee AK (2007) Impact of cadmium and lead on *Catharanthus roseus*-a phytoremediation study. *J Environ Biol* 28:655–662
- Parimalakrishnan S, Dey A, Smith A (2007) Evaluation of anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of methanol extract of *Cleome chelidonii*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 1(3), pp 223-228.
- Pichard A (2002). Plomb et ses dérivés, institut national de l'environnement. 90 p, P7 Potential role of NADPH-oxidase in early steps of lead-induced oxidative burst in *Vicia faba* roots. *J. Plant Physiol.* 165, 571-579.
- Pilon-Smits E(2005). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology* 56, 15- 39.
- Pivetz, B E (2001). Phytoremediation of Contaminated Soil and groundwater at hazardous waste sites. *Ground Water Issue*, United States Environmental Protection Agency, Office of Research and Development and Office of Soil Waste and Emergency Response, EPA/540/S-01/500, 36 p.
- Ponthieu M, Pourret O, Marin B, Schneider AR, Morvan X, Conreux A, Cancès B (2016) Evaluation of the impact of organic matter composition on metal speciation in calcareous soil solution: comparison of Model VI and NICA-Donnan. *Journal of Geochemical Exploration* 165: 1-7.
- Poskuta JW, Parys E et Romanowska E (1987). The effects of lead on the gaseous exchange and photosynthetic carbon metabolism of pea seedlings. *Acta Soc. Bot. Pol* 56 : 127-137.
- Prabha K Padmavathiamma et Loretta Y Li(2007). *Phytoremediation Technology: Hyper accumulation Metals in Plants*. *Water Air Soil Pollut* 184: 105–126.
- Prasad M(2004). *Heavy metal stress in plants from biomolecules to ecosystems* (2ème édition). Springer
- Pugh RE, Dick DG, Fredeen AL(2002). Heavy metal (Pb, Zn, Cd, Fe and Cu) contents of plant foliage near the Anvil Range lead/zinc mine, Faro, Yukon Territory, J. *Ecotoxi. Environ. Safety* 52 (2002) 273-279.
- Quezel P, Santa C(1962-1963): *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. C.N.R.S., Paris, 2 vol. 1170p.

- Raghavan R S(1993). Capparaceae. In: Sharma, B.D. & N. P. Balakrishnan (Eds) Flora of India vol 2., Howrah: Botanical Survey of India: pp 248 – 335.
- Raskin I, Kumar PBAN, Dushenkov S, Salt DE (1994). Bioconcentration of heavymetals by plants. Curr. Opin. Biotechnol , p90..
- Rattan R K, DattaS P, Chhonkar P K, Suribabu K, Singh A K(2005) Long-term impact of irrigation with sewage effluents on heavy metal content in soils, crops and groundwater-a cause study, J. Agri. Ecosystems and Environ. 109 , 310-322.
- Remon E (2006). Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. Université Jean Monnet, Saint Etienne
- Robert M, Juste C (1997). Dynamiques des éléments traces de l'écosystème sol.Dans: Association ECRIN éd., Spéciation des Métaux dans le Sol, Les cahiers des clubs CRIN, Club CRIN Environnement et Ministère de l'Environnement, Paris. 15-37.
- Samout, N, Bouzenna, H, EttayaA, Elfeki A, Hfaiedh N (2015). Antihypercholesterolemic effect of Cleome arabica L. on high cholesterol diet induced damage in rats. Excli journal, 14, 791-800.
- Seregin IV et Ivaniov VB (2001). Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. Russian Journal of Plant Physiology 48: 523-544 et 606-630.
- Sharma P, Dubey RS(2005). Lead toxicity in plants. Braz J Plant Physio. 17 (1): 35-52.
- Shaikh IR, Shaikh PR, Shaikh RA, Shaikh AA (2013) Phytotoxic effects of heavy metals (Cr, Cd, Mn and Zn) on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and seedlings growth in black cotton soil of Nanded, India. Research Journal of Chemical Sciences, 3(6), 14–23.
- Simoes C, De Mattos JCP, Sabino KCC, Caldeira-de-Araújo, A, Coelho MGP, Albarello N, Figueiredo SFL (2006). Medicinal potential from in vivo and acclimatized plants of *Cleome rosea*. Fitoterapia, 77, 94–99.
- Smits EAHP et Freeman JL(2006). Environnemental cleanup using plants biotechnological advances and ecological consideration. Front Eco Environ. 4 : 203-210
- Shafiq M, Iqbal MZ (2005) The toxicity effects of heavy metals on germination and seedling growth of *Cassia siamea* Lamk. J. New Seeds, 7: 95-105

- Shafiq M, M Zafar I, Athar M (2008) Effect of lead and cadmium on germination and seedling growth of *Leucaena Leucocephala*. *J. Appl. Sci. Environ. Manage*, Vol. 12(2) 61 – 66
- -Shah V , Daverey A (2020). Phytoremediation: A multidisciplinary approach to clean up heavy metal contaminated soil. *Environmental Technology & Innovation*, 18, 100774.
- Soltner D 2007. Les bases de la production végétale tome 3. La plante. Ed collection sciences et techniques agricole, paris, 304p
- Sparks DL (1998). *Environmental soil chemistry*. Academic Press, 267 p.
- Sudhakar M, Rao ChV, Rao PM, Raju DB (2006). Evaluation of antimicrobial activity of *Cleome viscosa* and *Gmelina asiatica*. *Fitoterapia* 77 47– 49.
- Tanveer A, Rehman A, Javaid MM, Abbas RN, Sibtain M, Ahmad A, Zamir MS, Chaudhary KM, Aziz A (2010) Allelopathic potential of *Euphorbia helioscopia* (L.) against wheat *Triticum aestivum* (L.), chickpea *Cicer arietinum* (L.) and lentil *Lens culinaris* Medic.. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 34, 75–81.doi :10.3906/tar-0903-53
- Tawaha K, Alali FQ, Gharaibeh M, Mohammad M, El-Elimat T, (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*, 104, 1372–1378.
- Tigrine, C., Bulzomi, P., Leone, S., Bouriche, H., Kameli, A., Marino, M. (2013). *Cleome arabica* leaf extract has anticancer properties in human cancer cells. *Pharmaceutical Biology*, 51(12), 1508–1514.
- Tomulescu I, Radoviciu E, Merca V et Tuduce A., (2004). "Effect of Copper , Zinc and Lead and Their Combinations on the Germination Capacity of Two Cereals" *journal of agricultural sciences* 15 : 39-42.
- Tucker GC, Vanderpool SS (2010). *Flora of North America: Volume 7: Magnoliophyta: Dilleniidae, Part 2*, New York: Oxford University Press Inc: p. 199.
- UNICER, (2005). *A guide to medicinal plants in North Africa*. Union internationale pour la conservation de la nature et ses ressources, Centre for mediterranean cooperation, Malaga, 256.
- Uzilday B, Turkan I, Sekmen AH, Ozgur R, Karakaya HC (2012). Comparison of ROS formation and antioxidant enzymes in *Cleome gynandra* (C4) and *Cleome spinosa* (C3) under drought stress. *Plant Science*, 182, 59– 70.

- Vernay A, Austruy C, Gauthier-Moussard et Hitmi A (2009) Germination et fonctionnement du système photosynthétique des végétaux comme bioindicateurs de pollution des sols 349P, 2009.
- Vidali M., (2001) Bioremediation. An overview. Pure and Applied Chemistry 73, 1163-1172.
- Vodnik D, Jentschke G, Fritz E, Gogala N et Godbold DL (1999). "Root-applied cytokinin reduces lead uptake and affects its distribution in Norway spruce seedling." *Physiologia Plantarum* 106 :75-81.
- Wierzbicka M et Obidzinska J (1998). "The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species." *Plant Science* 137 :155-171.
- Wang HX, Ng TB (1999). Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities. *Life Sciences*, 65(25), 2663-2677.
- Wozng A, Schneider J et Gwozdz EA (1995). "The effects of lead and kinetin on greening barley leaves." *Biologia Plantarum* 37 : 541-552.
- WEIQIANG L., KHAN M A., YAMAGUCHI S et KAMIYA Y (2005). Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regul.*, 46: 45-50.
- WOOLHOUSE H W (1983). Toxicity and tolerance in the responses of plants to metals. Pp 245-300 in: O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond & H. Ziegler (eds), *Encyclopaedia of Plant Physiology*, New Series 12C, Springer-Verlag, Berlin
- Xiong ZT (1997). Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleraceus* L. *Environmental Pollution* 97 : 275–279
- Xiong Z, Zhao F et Li M (2006). "Lead toxicity in *Brassica pekinensis* Rupr : Effect on nitrate assimilation and growth." *Environment Toxicology* 21 :147-153.
- Zheng LJ, Liu XM, Lutz U et Peer T (2011). Effects of lead and EDTA-assisted lead on biomass, lead uptake and mineral nutrients in *Lespedeza chinensis* and *Lespedeza davidii*. *Water Air Soil Poll* 220 : 57-68.
- http://www.plantes-botanique.org/genre_cleome.
- <http://atlas-sahara.org/index/liens/liens.html>

ANNEXE N°1/ TAUX DE GERMINATION

```

function for error bars
> error.bar <- function(x, y, upper, lower=upper, length=0.1,...){
+   if(length(x) != length(y) | length(y) !=length(lower) | length(lower)
+   != length(upper))
+     stop("vectors must be same length")
+   arrows(x,y+upper, x, y-lower, angle=90, code=3, length=length, ...)
+ }
> sem <- function(x){
+   sd(x)/sqrt(length(x))
+ }
> # l'écriture du fichier texte(RGJ8)
> pb<-read.table("RGJ8.txt",header = T,sep = "\t",dec = ",")
> str(pb)
'data.frame':  30 obs. of  4 variables:
 $ Lead      : Factor w/ 6 levels "dose1","dose2",...: 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2
...
 $ REPETITION: int  1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 ...
 $ DOSES      : int  0 0 0 0 0 50 50 50 50 50 ...
 $ RGJ8       : int  35 50 70 55 65 65 60 40 55 35 ...
> my_sem <- tapply(pb$RGJ8,pb$Lead,sem)
> my_mean <-tapply(pb$RGJ8,pb$Lead,mean)
> ## graphe LR en fonction des Lead(RGJ8)
> barplot(tapply(pb$RGJ8,pb$DOSES,mean) ,col = "grey",xlab = "Lead
concentration [ppm]",ylab = "Radicles length",main = "RGJ8")
> res<-aov(pb$RGJ8~pb$Lead)
> summary(res)
          Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
pb$Lead    5    277    55.5    0.396  0.846
Residuals 24   3360   140.0
> TukeyHSD(res)
  Tukey multiple comparisons of means
  95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = pb$RGJ8 ~ pb$Lead)

 $`pb$Lead`
          diff          lwr          upr          p adj
dose2-dose1 -4.000000e+00 -27.13789  19.13789  0.9941295
dose3-dose1 -6.000000e+00 -29.13789  17.13789  0.9644156
dose4-dose1 -1.000000e+00 -24.13789  22.13789  0.9999932
dose5-dose1  2.000000e+00 -21.13789  25.13789  0.9997889
dose6-dose1 -6.000000e+00 -29.13789  17.13789  0.9644156
dose3-dose2 -2.000000e+00 -25.13789  21.13789  0.9997889
dose4-dose2  3.000000e+00 -20.13789  26.13789  0.9984887
dose5-dose2  6.000000e+00 -17.13789  29.13789  0.9644156
dose6-dose2 -2.000000e+00 -25.13789  21.13789  0.9997889
dose4-dose3  5.000000e+00 -18.13789  28.13789  0.9838335
dose5-dose3  8.000000e+00 -15.13789  31.13789  0.8887499
dose6-dose3 -7.105427e-15 -23.13789  23.13789  1.0000000
dose5-dose4  3.000000e+00 -20.13789  26.13789  0.9984887
dose6-dose4 -5.000000e+00 -28.13789  18.13789  0.9838335
dose6-dose5 -8.000000e+00 -31.13789  15.13789  0.8887499

> noms<-unique(pb$DOSES)
> #barplot
> barx <- barplot(my_mean,
+                 names.arg=noms, main = "",
+                 col = "grey",
+                 xlab = 'Lead concentration [ppm]',
+                 ylab='Germination[%]')
> error.bar(barx, my_mean, my_sem)

```

ANNEX N°2: CENITIQUE DE GERMINATION

```

> pb<-read.table("CRG.txt",header = T,sep = "\t",dec = ",",")
> tmp<-c(rep(0,5),rep(50,5),rep(100,5),rep(150,5),rep(200,5),rep(250,5))
> pb[,2]<-tmp
> colnames(pb)[colnames(pb)=="REPETITION"] <-"Doses"
> library(reshape2)
> pb1<-melt(pb[,2:6], id.vars = "Doses")
> names(pb1)<-c("Doses","Jours","pb")
> res<-aov(pb1$pb~as.character(pb1$Doses))
> summary(res)
              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
as.character(pb1$Doses)  5  51534   10307   2.375 0.0432 *
Residuals                114 494644    4339
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> TukeyHSD(res)
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = pb1$pb ~ as.character(pb1$Doses))

`as.character(pb1$Doses)`
      diff      lwr      upr      p adj
100-0   26.25 -34.132154  86.63215 0.8057983
150-0   38.25 -22.132154  98.63215 0.4469091
200-0   49.75 -10.632154 110.13215 0.1690918
250-0   61.75  1.367846 122.13215 0.0418983
50-0    15.25 -45.132154  75.63215 0.9775509
150-100 12.00 -48.382154  72.38215 0.9924085
200-100 23.50 -36.882154  83.88215 0.8687020
250-100 35.50 -24.882154  95.88215 0.5318685
50-100 -11.00 -71.382154  49.38215 0.9949371
200-150 11.50 -48.882154  71.88215 0.9937691
250-150 23.50 -36.882154  83.88215 0.8687020
50-150 -23.00 -83.382154  37.38215 0.8787452
250-200 12.00 -48.382154  72.38215 0.9924085
50-200 -34.50 -94.882154  25.88215 0.5633547
50-250 -46.50 -106.882154 13.88215 0.2312968

> #function for standard error of the mean
> sem <- function(x){
+   sd(x)/sqrt(length(x))
+ }
> error.bar <- function(x, y, upper, lower=upper, length=0.1,...){
+   if(length(x) != length(y) | length(y) !=length(lower) | length(lower)
+   != length(upper))
+     stop("vectors must be same length")
+   arrows(x,y+upper, x, y-lower, angle=90, code=3, length=length, ...)
+ }
> my_mean <- tapply(pb1$pb,pb1$Doses,mean)
> ## my_sd<-tapply(pb1$pb,pb1$Doses,sd)
> my_sem<-tapply(pb1$pb,pb1$Doses,sem)
> #barplot
> barx <- barplot(my_mean,
+                 main = "Rate germination",          ### a changer dans
main
+                 xlab = "Time ((Days)",
+                 ylab='Germination ') ### a changer dans ylab
> error.bar(barx, my_mean, my_sem)
> xx<-pb[,c(-1)]
> J1<-tapply(xx$TG1, xx$Doses, mean)
> J2<-tapply(xx$TG2, xx$Doses, mean)
> J3<-tapply(xx$TG3, xx$Doses, mean)
> J4<-tapply(xx$TG4, xx$Doses, mean)
> J5<-tapply(xx$TG5, xx$Doses, mean)

```

```

> J6<-tapply(xx$TG6, xx$Doses, mean)
> J7<-tapply(xx$TG7, xx$Doses, mean)
> J8<-tapply(xx$TG8, xx$Doses, mean)
> J9<-tapply(xx$TG9, xx$Doses, mean)
> J10<-tapply(xx$TG10, xx$Doses, mean)
> J11<-tapply(xx$TG11, xx$Doses, mean)
> J12<-tapply(xx$TG12, xx$Doses, mean)
> J13<-tapply(xx$TG13, xx$Doses, mean)
> J14<-tapply(xx$TG14, xx$Doses, mean)
> J15<-tapply(xx$TG15, xx$Doses, mean)
> yy<-data.frame(J1,J2,J3,J4,J5,J6,J7,J8,J9,J10,J11,J12,J13,J14,J15)
> barplot(as.matrix(yy), main="Germination (%)", ylab="Germination (%)",
beside=TRUE, xlab = "Jours",
+         col=terrain.colors(7))
> legend("topleft", c("0ppm","50ppm","100ppm","150ppm","200ppm","250ppm"),
cex=0.9,
+         fill=terrain.colors(7))
> apply(yy,2,max)
  J1  J2  J3  J4  J5  J6  J7  J8  J9  J10  J11  J12  J13  J14  J15
  0   0  26  51  55  55  57  57  57  57  57  57  57  57  57
> apply(yy,2,min)
  J1  J2  J3  J4  J5  J6  J7  J8  J9  J10  J11  J12  J13  J14  J15
  0   0  12  34  43  43  46  49  49  49  49  49  49  49  49
> ww<-as.data.frame(t(yy))
> J2<-c(0,0,0,0,0,0,0)
> tmp<-rbind(J1,ww)
> rownames(tmp)[1]<-"J2"

> aa<-seq(1,14,2)
> ww<-tmp
> plot(ww$`0`,col=1, ylim=c(0, max(ww)),type =
"o",pch=1,xaxt='n',yaxt="n",ann=FALSE)
> par(new=T)
> plot(ww$`50`,col=2,ylim=c(0, max(ww)), type =
"o",pch=2,xaxt='n',yaxt="n",ann=FALSE)
> par(new=T)
> plot(ww$`100`,col=3, ylim=c(0, max(ww)),type =
"o",pch=3,xaxt='n',yaxt="n",ann=FALSE)
> par(new=T)
> plot(ww$`150`,col=4, ylim=c(0, max(ww)),type =
"o",pch=4,xaxt='n',yaxt="n",ann=FALSE)
> plot(ww$`200`,col=5, ylim=c(0, max(ww)),type =
"o",pch=5,xaxt='n',yaxt="n",ann=FALSE)
> par(new=T)
> par(new=T)
> plot(ww$`250`,col=6,ylim=c(0, max(ww)), type = "o",pch=7,xlab = "Time
(Days)",main = " ",ylab = "Germination (%)")
> legend("topleft", legend = colnames(ww), col =
c(1,2,3,4,5,6,"orange"),pt.cex = 1, cex = 0.8,text.col =
c(1,2,3,4,5,6,"orange"),pch =c(1,2,3,4,5,6,7))

```

ANNEX N°3 :TAUX DE GERMINATION RELATIVE

```

#function for error bars
> error.bar <- function(x, y, upper, lower=upper, length=0.1,...){
+   if(length(x) != length(y) | length(y) !=length(lower) | length(lower)
+   != length(upper))
+     stop("vectors must be same length")
+   arrows(x,y+upper, x, y-lower, angle=90, code=3, length=length, ...)
+ }
> sem <- function(x){
+   sd(x)/sqrt(length(x))
+ }
> # l'écriture du fichier texte(RGR)
> pb<-read.table("RGR.txt",header = T,sep = "\t",dec = ",")
> str(pb)
'data.frame':  30 obs. of  4 variables:
 $ Lead      : Factor w/ 6 levels "dose1","dose2",...: 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2
...
 $ REPETITION: int  1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 ...
 $ DOSES      : int  0 0 0 0 0 50 50 50 50 50 ...
 $ RGR       : num  NA NA NA NA NA 1.9 1.2 0.6 1 0.5 ...
> my_sem <- tapply(pb$RGR,pb$Lead,sem)
> my_mean <-tapply(pb$RGR,pb$Lead,mean)
> ## graphe LR en fonction des Lead(RGR)
> barplot(tapply(pb$RGR,pb$DOSES,mean) ,col = "yellow",xlab = "Lead
concentration [ppm]",ylab = "Germination rate [%]",main = "RGR")
> res<-aov(pb$RGR~pb$Lead)
> summary(res)
          Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
pb$Lead   4  0.154  0.0386   0.199  0.936
Residuals 20  3.872  0.1936
5 observations deleted due to missingness
> TukeyHSD(res)
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = pb$RGR ~ pb$Lead)

 $`pb$Lead`
      diff      lwr      upr      p adj
dose3-dose2 -0.14 -0.9727193  0.6927193  0.9861104
dose4-dose2 -0.04 -0.8727193  0.7927193  0.9998948
dose5-dose2  0.10 -0.7327193  0.9327193  0.9961316
dose6-dose2 -0.06 -0.8927193  0.7727193  0.9994752
dose4-dose3  0.10 -0.7327193  0.9327193  0.9961316
dose5-dose3  0.24 -0.5927193  1.0727193  0.9071744
dose6-dose3  0.08 -0.7527193  0.9127193  0.9983744
dose5-dose4  0.14 -0.6927193  0.9727193  0.9861104
dose6-dose4 -0.02 -0.8527193  0.8127193  0.9999934
dose6-dose5 -0.16 -0.9927193  0.6727193  0.9772714

> noms<-unique(pb$DOSES)
> #barplot
> barx <- barplot(my_mean,
+                 names.arg=noms, main = "",
+                 col = "grey",
+                 xlab = 'Lead concentration [ppm]',
+                 ylab='REALTIVE RATE GERMINATION')
> error.bar(barx, my_mean, my_sem)

```

ANNEX N°4 : LONGUEUR DES RADICULES

```

> #function for error bars
> error.bar <- function(x, y, upper, lower=upper, length=0.1,...){
+   if(length(x) != length(y) | length(y) !=length(lower) | length(lower)
+   != length(upper))
+     stop("vectors must be same length")
+   arrows(x,y+upper, x, y-lower, angle=90, code=3, length=length, ...)
+ }
> sem <- function(x){
+   sd(x)/sqrt(length(x))
+ }
> # l'écriture du fichier texte(RJ10)
> pb<-read.table("RJ10.txt",header = T,sep = "\t",dec = ",")
> str(pb)
'data.frame':  42 obs. of  11 variables:
 $ Lead      : Factor w/ 7 levels "", "dose1", "dose2",...: 2 2 2 2 2 3 3 3 3
3 ...
 $ REPETITION: int  1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 ...
 $ DOSES      : int  0 0 0 0 0 50 50 50 50 50 ...
 $ RJ10       : num  1.22 2.13 1.88 1.83 1.93 0.63 0.87 0.58 0.85 0.8 ...
 $ X          : logi  NA NA NA NA NA NA NA ...
 $ X.1        : logi  NA NA NA NA NA NA NA ...
 $ X.2        : logi  NA NA NA NA NA NA NA ...
 $ X.3        : logi  NA NA NA NA NA NA NA ...
 $ X.4        : logi  NA NA NA NA NA NA NA ...
 $ X.5        : logi  NA NA NA NA NA NA NA ...
 $ X.6        : logi  NA NA NA NA NA NA NA ...
> my_sem <- tapply(pb$RJ10,pb$Lead,sem)
> my_mean <-tapply(pb$RJ10,pb$Lead,mean)
> ## graphe LR en fonction des Lead(RJ10)
> barplot(tapply(pb$RJ10,pb$DOSES,mean) ,col = "orange",xlab = "Lead
concentration [ppm]",ylab = "Length [cm]")
> res<-aov(pb$RJ10~pb$Lead)
> summary(res)
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
pb$Lead  5  9.926   1.985   79.47 3.9e-14 ***
Residuals 24  0.600   0.025
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
12 observations deleted due to missingness
> TukeyHSD(res)
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = pb$RJ10 ~ pb$Lead)

$`pb$Lead`
      diff      lwr      upr      p adj
dose2-dose1 -1.052 -1.3610694 -0.742930596 0.0000000
dose3-dose1 -1.338 -1.6470694 -1.028930596 0.0000000
dose4-dose1 -1.542 -1.8510694 -1.232930596 0.0000000
dose5-dose1 -1.644 -1.9530694 -1.334930596 0.0000000
dose6-dose1 -1.636 -1.9450694 -1.326930596 0.0000000
dose3-dose2 -0.286 -0.5950694  0.023069404 0.0811882
dose4-dose2 -0.490 -0.7990694 -0.180930596 0.0006792
dose5-dose2 -0.592 -0.9010694 -0.282930596 0.0000552
dose6-dose2 -0.584 -0.8930694 -0.274930596 0.0000670
dose4-dose3 -0.204 -0.5130694  0.105069404 0.3500162
dose5-dose3 -0.306 -0.6150694  0.003069404 0.0534061
dose6-dose3 -0.298 -0.6070694  0.011069404 0.0632903
dose5-dose4 -0.102 -0.4110694  0.207069404 0.9064855
dose6-dose4 -0.094 -0.4030694  0.215069404 0.9317913
dose6-dose5  0.008 -0.3010694  0.317069404 0.9999995

> noms<-unique(pb$DOSES)
> #barplot
> barx <- barplot(my_mean,

```

```
+         names.arg=noms, main = "",
+         col = "orange",
+         xlab = 'Lead concentration [ppm]',
+         ylab='Length [cm]')
> error.bar(barx, my_mean, my_sem)
```

ANNEX N°5: LONGUEUR DES TIGELLES

```

#function for error bars
> error.bar <- function(x, y, upper, lower=upper, length=0.1,...){
+   if(length(x) != length(y) | length(y) !=length(lower) | length(lower)
+   != length(upper))
+     stop("vectors must be same length")
+   arrows(x,y+upper, x, y-lower, angle=90, code=3, length=length, ...)
+ }
> sem <- function(x){
+   sd(x)/sqrt(length(x))
+ }
> # l'écriture du fichier texte(RATIO)
> pb<-read.table("RATIO.txt",header = T,sep = "\t",dec = ",")
> str(pb)
'data.frame': 30 obs. of 4 variables:
 $ Lead      : Factor w/ 6 levels "dose1","dose2",...: 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2
...
 $ REPETITION: int 1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 ...
 $ DOSES      : int 0 0 0 0 0 50 50 50 50 50 ...
 $ RATIO      : num 0.44 0.74 0.62 0.67 0.73 0.34 0.41 0.29 0.41 0.36 ...
> my_sem <- tapply(pb$RATIO,pb$Lead,sem)
> my_mean <-tapply(pb$RATIO,pb$Lead,mean)
> ## graphe LR en fonction des Lead(RATIO)
> barplot(tapply(pb$RATIO,pb$DOSES,mean) ,col = "black",xlab = "Lead
concentration [ppm]",ylab = "Relative Germination Rate",main = "RATIO")
> res<-aov(pb$RATIO~pb$Lead)
> summary(res)
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
pb$Lead    5 0.6057  0.12113    29.07 1.93e-09 ***
Residuals 24 0.1000  0.00417
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> TukeyHSD(res)
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = pb$RATIO ~ pb$Lead)

 $`pb$Lead`
      diff      lwr      upr      p adj
dose2-dose1 -0.278 -0.40422756 -0.151772443 0.0000066
dose3-dose1 -0.304 -0.43022756 -0.177772443 0.0000015
dose4-dose1 -0.382 -0.50822756 -0.255772443 0.0000000
dose5-dose1 -0.426 -0.55222756 -0.299772443 0.0000000
dose6-dose1 -0.390 -0.51622756 -0.263772443 0.0000000
dose3-dose2 -0.026 -0.15222756  0.100227557 0.9869466
dose4-dose2 -0.104 -0.23022756  0.022227557 0.1499693
dose5-dose2 -0.148 -0.27422756 -0.021772443 0.0150666
dose6-dose2 -0.112 -0.23822756  0.014227557 0.1028989
dose4-dose3 -0.078 -0.20422756  0.048227557 0.4201378
dose5-dose3 -0.122 -0.24822756  0.004227557 0.0623403
dose6-dose3 -0.086 -0.21222756  0.040227557 0.3172946
dose5-dose4 -0.044 -0.17022756  0.082227557 0.8853801
dose6-dose4 -0.008 -0.13422756  0.118227557 0.9999543
dose6-dose5  0.036 -0.09022756  0.162227557 0.9472643

> noms<-unique(pb$DOSES)
> #barplot
> barx <- barplot(my_mean,
+                 names.arg=noms, main = "",
+                 col = "orange",
+                 xlab = 'Lead concentration [ppm]',
+                 ylab='RATIO')
> error.bar(barx, my_mean, my_sem)
>

```

ANNEX N°6 : INDICE DE TOLERANCE

```

> #function for error bars
> error.bar <- function(x, y, upper, lower=upper, length=0.1,...){
+   if(length(x) != length(y) | length(y) !=length(lower) | length(lower)
+   != length(upper))
+     stop("vectors must be same length")
+   arrows(x,y+upper, x, y-lower, angle=90, code=3, length=length, ...)
+ }
> sem <- function(x){
+   sd(x)/sqrt(length(x))
+ }
> # l'écriture du fichier texte(TI)
> pb<-read.table("TI.txt",header = T,sep = "\t",dec = ",")
> str(pb)
'data.frame': 30 obs. of 4 variables:
 $ Lead      : Factor w/ 6 levels "dose1","dose2",...: 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2
...
 $ REPETITION: int  1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 ...
 $ DOSES      : int  0 0 0 0 0 50 50 50 50 50 ...
 $ TI        : num  NA NA NA NA NA ...
> my_sem <- tapply(pb$TI,pb$Lead,sem)
> my_mean <-tapply(pb$TI,pb$Lead,mean)
> ## graphe LR en fonction des Lead(TI)
> barplot(tapply(pb$TI,pb$DOSES,mean) ,col = "grey",xlab = "Lead
concentration [ppm]",ylab = "Germination rate [%]",main = "TI")
> res<-aov(pb$TI~pb$Lead)
> summary(res)
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
pb$Lead    4  4067  1016.9    19.61 1.07e-06 ***
Residuals 20   1037    51.9
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
5 observations deleted due to missingness
> TukeyHSD(res)
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = pb$TI ~ pb$Lead)

$`pb$Lead`
      diff      lwr      upr      p adj
dose3-dose2 -14.824 -28.45188 -1.196118 0.0289031
dose4-dose2 -27.420 -41.04788 -13.792118 0.0000616
dose5-dose2 -33.300 -46.92788 -19.672118 0.0000042
dose6-dose2 -33.016 -46.64388 -19.388118 0.0000047
dose4-dose3 -12.596 -26.22388  1.031882 0.0787359
dose5-dose3 -18.476 -32.10388 -4.848118 0.0049587
dose6-dose3 -18.192 -31.81988 -4.564118 0.0057039
dose5-dose4  -5.880 -19.50788  7.747882 0.6994238
dose6-dose4  -5.596 -19.22388  8.031882 0.7352674
dose6-dose5   0.284 -13.34388 13.911882 0.9999962

> noms<-unique(pb$DOSES)

```

ANNEX N°7: POURCENTAGE DE PHYTOTXICITE

```

> #function for error bars
> error.bar <- function(x, y, upper, lower=upper, length=0.1,...){
+   if(length(x) != length(y) | length(y) !=length(lower) | length(lower)
+   != length(upper))
+     stop("vectors must be same length")
+   arrows(x,y+upper, x, y-lower, angle=90, code=3, length=length, ...)
+ }
> sem <- function(x){
+   sd(x)/sqrt(length(x))
+ }
> # l'écriture du fichier texte(PP)
> pb<-read.table("PP.txt",header = T,sep = "\t",dec = ",")
> str(pb)
'data.frame':  30 obs. of  4 variables:
 $ Lead      : Factor w/ 6 levels "dose1","dose2",...: 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2
...
 $ REPETITION: int  1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 ...
 $ DOSES      : int  0 0 0 0 0 50 50 50 50 50 ...
 $ PP        : num  NA NA NA NA NA ...
> my_sem <- tapply(pb$PP,pb$Lead,sem)
> my_mean <-tapply(pb$PP,pb$Lead,mean)
> ## graphe LR en fonction des Lead(PP)
> barplot(tapply(pb$PP,pb$DOSES,mean) ,col = "yellow",xlab = "Lead
concentration [ppm]",ylab = "Germination rate [%]",main = "PP")
> res<-aov(pb$PP~pb$Lead)
> summary(res)
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
pb$Lead    4  4067  1016.9   19.61 1.07e-06 ***
Residuals 20   1037    51.9
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
5 observations deleted due to missingness
> TukeyHSD(res)
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = pb$PP ~ pb$Lead)

$`pb$Lead`
      diff      lwr      upr      p adj
dose3-dose2 14.824  1.196118 28.45188 0.0289031
dose4-dose2 27.420 13.792118 41.04788 0.0000616
dose5-dose2 33.300 19.672118 46.92788 0.0000042
dose6-dose2 33.016 19.388118 46.64388 0.0000047
dose4-dose3 12.596 -1.031882 26.22388 0.0787359
dose5-dose3 18.476  4.848118 32.10388 0.0049587
dose6-dose3 18.192  4.564118 31.81988 0.0057039
dose5-dose4  5.880 -7.747882 19.50788 0.6994238
dose6-dose4  5.596 -8.031882 19.22388 0.7352674
dose6-dose5 -0.284 -13.911882 13.34388 0.9999962

> noms<-unique(pb$DOSES)
> #barplot
> barx <- barplot(my_mean,
+               names.arg=noms, main = "",
+               col = "grey",
+               xlab = 'Lead concentration [ppm]',
+               ylab='Phytoxicity[%]')
> error.bar(barx, my_mean, my_sem)

```

