

N° d'ordre

MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

THESE

Présentée
Pour obtenir

**LE TITRE DE DOCTEUR EN SCIENCES
DU MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE**

Spécialité :

Ecologie Végétale

par

Oualida RACHED-MOSBAH

Sujet :

**ACTION DE L'ANTIMOINE SUR LA VEGETATION EN ZONE STEPPIQUE
ET ETUDE DE L'ADAPTATION D'UNE ESPECE TOLERANTE (*Hedysarum
pallidum* Desf.)**

Soutenue le 21 décembre 1993 devant la Commission composée de :

M. GUITTONNEAU Guy-Georges
M. LETOUZE Robert
M. BLANDIN Patrick
M. COUDERC Henri
M. DUTUIT Pierre
MME. GARDOU Christiane

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur
Examineur

N° d'ordre

MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

THESE

Présentée
Pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR EN SCIENCES
DU MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

Spécialité :

Ecologie Végétale

par

Oualida RACHED-MOSBAH

Sujet :

**ACTION DE L'ANTIMOINE SUR LA VEGETATION EN ZONE STEPPIQUE
ET ETUDE DE L'ADAPTATION D'UNE ESPECE TOLERANTE (*Hedysarum
pallidum* Desf.)**

Soutenue le 21 décembre 1993 devant la Commission composée de :

M. GUITTONNEAU Guy-Georges	Rapporteur
M. LETOUZE Robert	Rapporteur
M. BLANDIN Patrick	Examineur
M. COUDERC Henri	Examineur
M. DUTUIT Pierre	Examineur
MME. GARDOU Christiane	Examineur

A mon mari,

A mes filles,

A mon père,

A ma mère.

AVANT-PROPOS

Le thème de ce travail nous a été proposé par Madame C. GARDOU, Maître de conférence à l'Université Paris-Sud, chercheur au Laboratoire de Biologie Végétale Appliquée du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, qui n'a pas cessé de nous encourager et de nous conseiller tout au long de nos recherches. Grâce à elle la phytosociologie est devenue moins énigmatique et les déterminations des plantes beaucoup plus aisées. Ses compétences en Cytogénétique et en Biologie et Ecologie Végétales nous ont été d'une grande aide. Nous ne saurons la remercier assez pour toute l'aide qu'elle nous a apportée durant notre séjour en France ainsi que pour la réalisation de ce travail. Nous tenons à lui exprimer ici notre plus profonde gratitude.

Nous exprimons toute notre reconnaissance à Monsieur le Professeur H. COUDERC qui nous a accueilli avec bienveillance dans son Laboratoire de Biologie Végétale Appliquée, au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, et a aussi accepté de faire partie de notre jury.

Nous avons été particulièrement touchée par l'accueil très aimable que Monsieur le Professeur R. LETOUZE nous a réservé lors de notre stage dans son Laboratoire de Recherches en Physiologie Végétale à Angers. Nous lui sommes très reconnaissante d'avoir organisé tout le contexte nécessaire à la réalisation des électrophorèses et lui faisons nos plus vifs remerciements pour avoir accepté de juger notre travail et d'en être l'un des deux rapporteurs.

Monsieur le Professeur G.G. GUITTONEAU, Directeur du Laboratoire d'Ecologie Végétale de l'Université d'Orléans, a accepté sans hésitations d'être l'un des rapporteurs de notre thèse. Qu'il trouve ici l'expression de notre plus profonde gratitude.

Nous témoignons également notre grande reconnaissance à Monsieur le Professeur P. BLANDIN, Directeur du Laboratoire d'Ecologie Générale du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, qui a accepté d'emblée de faire partie de notre jury.

Nous sommes très redevable envers Monsieur P. DUTUIT, Maître de Conférence au Laboratoire de Biologie Cellulaire de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Paris-Sud (Chatenay-Malabry), qui nous a initiée aux techniques de culture *in vitro*.

Nous le remercions également de bien vouloir faire partie de notre jury.

Nous ne saurons oublier d'exprimer toute notre gratitude à Monsieur M. MESBAH, Maître de Conférence en statistiques à l'Université de Bab-Ezzouar à Alger pour ses précieux conseils et pour l'aide qu'il nous a apportée dans le traitement informatique des tests statistiques.

Monsieur le Professeur J.-L. GUIGNARD nous a permis d'effectuer nos tests expérimentaux de culture *in vitro* au sein de son Laboratoire de Biologie Cellulaire de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Paris-Sud (Chatenay-Malabry). Nous lui adressons ici nos plus sincères remerciements.

Nous tenons à remercier particulièrement Madame E. FAUQUEMBERGUE pour l'aide très précieuse apportée à la réalisation de ce travail et pour la sympathie qu'elle nous a toujours manifestée.

Nos remerciements vont également à Madame P. SATTOUR, du Laboratoire de Recherches en Physiologie Végétale à Angers, qui nous a aidée dans la réalisation des électrophorèses et initiée aux techniques électrophorétiques par "Phast-System".

Nous remercions très sincèrement notre amie et condisciple Madame H. MORIN dont les conseils judicieux et les suggestions en matière de cultures *in vitro* nous ont été très précieux.

Nous remercions également la direction de l'Institut des Sciences de la Nature de l'Université de Constantine (Algérie) pour avoir mis à notre disposition, chaque fois que cela s'avérait nécessaire, un véhicule de terrain.

A toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de cette thèse, nous exprimons ici notre reconnaissance, plus particulièrement : le personnel administratif du Laboratoire de Biologie Végétale du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, le personnel administratif du Laboratoire de Recherches en Physiologie Végétale d'Angers, Monsieur R. BAUDOIN, responsable du centre informatique du M.N.H.N., Monsieur J.-C. JOLINON, responsable de l'herbier du M.N.H.N. et nos condisciples Monsieur B. BENTOUIL et Madame F. LAMBERT.

SOMMAIRE

* * * * *

AVANT-PROPOS	
SOMMAIRE	1
TABLE DES ILLUSTRATIONS	5
INTRODUCTION	10
CHAPITRE I - L'ANTIMOINE DANS LA BIOSPHERE, UTILITE, TOXICOLOGIE	15
1 - Répartition et production dans le monde	15
2 - Usages et toxicologie	16
2.1 - Usages	16
2.2 - Toxicologie	18
3 - L'antimoine dans la biosphère	20
3.1 - L'antimoine dans les régions normales	20
3.2 - L'antimoine dans les milieux contaminés	22
CHAPITRE II - ACTION DE L'ANTIMOINE SUR LA VEGETATION EN ZONE STEPPIQUE	25
1 - Etude phytosociologique	25
1.1 - Méthodes d'échantillonnage et d'analyses chimiques	25
1.2 - Typologie syntaxonomique des relevés	26
1.2.1 - Le groupe I	29
1.2.2 - Le groupe II	29
1.2.3 - Le groupe III	32
1.2.4 - Les relevés marginaux	32
1.3 - Action de l'antimoine sur la végétation	32
1.3.1 - Action de l'antimoine sur les groupements floristiques	33

1.3.1.1 - Le groupe I	33
1.3.1.2 - Le groupe II	34
1.3.1.3 - Le groupe III	36
1.3.2 - Action de l'antimoine sur les espèces végétales	36
1.3.2.1 - Les espèces résistantes	37
1.3.2.2 - Les espèces non résistantes	37
1.3.2.3 - Les espèces indifférentes	37
1.4 - Conclusion	38
2 - Etude du mode de tolérance de quelques espèces végétales	38
2.1 - Matériel et méthodes	38
2.2 - Résultats et discussion	39
2.2.1 - Exclusion	41
2.2.2 - Tolérance	41
2.2.2.1 - Les accumulateurs	41
2.2.2.2 - Les concentrateurs	42
2.3 - Conclusion	44
CHAPITRE III - ÉTUDE COMPARATIVE DE DEUX POPULATIONS D'UNE ESPÈCE TOLÉRANTE, <i>Hedysarum pallidum</i> Desf.	45
1 - Caractérisation de l'espèce	45
1.1 - Localisation de l'espèce	46
1.2 - Caractères morphologiques	46
1.3 - Biologie florale	47
1.3.1 - Méthodologie	47
1.3.1.1 - Détermination du mode de fécondation	47
1.3.1.2 - Détermination de la qualité des grains de pollen : test d'Alexander	47
1.3.2 - Résultats et discussion	48
1.4 - Nombres de chromosomes	50
2 - Tests de croissance en milieu contrôlé	50

2.1 - Méthodologie	50
2.1.1 - Matériel utilisé	50
2.1.2 - Méthode d'expérimentation	51
2.1.2.1 - Milieux utilisés	51
2.1.2.2 - Préparation des milieux	51
2.1.2.3 - Préparation des graines et mesures effectuées	52
2.1.3 - Méthode d'analyse de l'antimoine	52
2.1.4 - Méthode histologique	53
2.1.5 - Méthodes de traitement des données	54
2.2 - Résultats et discussion	54
2.2.1 - Essais préliminaires	54
2.2.2 - Etude morphologique, histologique et chromosomique des cultures expérimentales <i>in vitro</i>	56
2.2.2.1 - Description morphologique	56
2.2.2.2 - Etude histologique des cotylédons et des rejets	60
2.2.2.3 - Répartition des néoformations dans les cultures expérimentales	62
2.2.2.4 - Numérations chromosomiques	65
2.2.3 - Tests de croissance	67
2.2.3.1 - Croissance des racines	67
2.2.3.1.1 - Longueurs moyennes	67
2.2.3.1.2 - Indice de tolérance	72
2.2.3.1.3 - Ramifications racinaires	74
2.2.3.2 - Croissance des parties aériennes	74
2.2.3.2.1 - Longueurs moyennes	74
2.2.3.2.2 - Poids sec	80
2.2.3.2.3 - Indice de toxicité	81

2.2.3.2.4 - Ramifications des tiges	82
2.2.3.2.5 - Les feuilles	82
2.2.4 - Etude de l'absorption de l'antimoine par les plantules	85
2.3 - Discussion et conclusion	87
3 - Etude de la variabilité enzymatique	91
3.1 - Matériel et méthodes	92
3.1.1 - Matériel végétal	92
3.1.2 - Préparation des extraits	92
3.1.3 - Méthode électrophorétique	93
3.1.3.1 - Séparation électrophorétique	93
3.1.3.2 - Révélation des isoenzymes	93
3.1.3.3 - Conservation des gels	93
3.2 - Résultats	94
3.2.1 - Alcool déshydrogénase (ADH)	94
3.2.2 - Malate déshydrogénase (MDH)	94
3.2.3 - Iso-citrate déshydrogénase (ICD)	97
3.2.4 - Glutamate oxalo-acétate transaminase (GOT)	97
3.2.5 - Phosphoglucomutase (PGM) et Phosphoglucoisomérase (PGI)	97
3.2.6 - Estérases (EST)	97
3.3 - Discussion et conclusion	100
CONCLUSION GENERALE	103
BIBLIOGRAPHIE	107
ANNEXES	119

TABLE DES ILLUSTRATIONS

* * * * *

FIGURES

Introduction

- Figure 1 - L'antimoine dans le monde (d'après PERICHAUD, 1980)12
- Figure 2 - Carte des teneurs en antimoine dans le secteur du Djebel Hamimat (d'après SONDAG, 1980 et RACHED, 1983)14

Chapitre II - Action de l'antimoine sur la végétation en zone steppique

- Figure 3 - Carte factorielle des relevés, axes 1-2 (taux d'antimoine assimilable du sol et variables géomorphologiques en projection sur les points représentant les relevés)27
- Figure 4 - Carte factorielle des relevés, axes 3-4 (taux d'antimoine assimilable du sol et variables géomorphologiques en projection sur les points représentant les relevés)28
- Figure 5 - Courbe du nombre d'espèces caractéristiques ou du nombre d'espèces totales rapporté au taux d'antimoine assimilable dans les sols des stations du groupe I35
- Figure 6 - Rapports d'accumulation d'antimoine de quelques plantes, en fonction des taux d'antimoine du sol43

Chapitre III - Etude comparative de deux populations d'une espèce tolérante : *Hedysarum pallidum* Desf.

- Figure 7 - Pourcentage de fleurs en fonction du pourcentage de grains de pollenviables49
- Figure 8 - Longueurs moyennes des racines de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (pop. 1) et population témoin (pop. 2) à la mise en culture (a), après une semaine de mise en culture (b), après deux semaines (c) et après huit semaines (d)71
- Figure 9 - Longueurs moyennes, en fonction du temps, des racines de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (a) et population témoin (b)73

- Figure 10 - Indice de tolérance de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf., population des déblais de mine (pop. 1) et population témoin (pop. 2)75
- Figure 11 - Données diverses, après huit semaines de mise en culture, de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf., population des déblais de mine (pop. 1) et population témoin (pop. 2) : poids sec (a), nombre moyen des ramifications racinaires supérieures à 2cm (b), nombre moyen des ramifications de tige (c) et nombre moyen des feuilles étiolées (d)76
- Figure 12 - Longueurs moyennes des parties aériennes de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (pop. 1) et population témoin (pop. 2), après une semaine de mise en culture (a), après deux semaines (b), après trois semaines (c) et après huit semaines (d).....77
- Figure 13 - Longueurs moyennes, en fonction du temps, des parties aériennes de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (a) et population témoin (b) .79
- Figure 14 - Nombre moyen des feuilles de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf., population des déblais de mines (pop. 1) et population témoin (pop. 2), après une semaine de mise en culture (a), après deux semaines (b), après trois semaines (c) et après huit semaines (d)83
- Figure 15 - Nombre moyen de feuilles, en fonction du temps, pour deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (a) et population témoin (b)84
- Figure 16 - Teneur en antimoine de la biomasse aérienne de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (1) et population témoin (2)86
- Figure 17 - Rapports d'accumulation de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (1) et population témoin (2)86
- Figure 18 - Représentation des deux types de zymogrammes des Alcohol-déshydrogénases (A.D.H.) chez *Hedysarum pallidum* Desf.95
- Figure 19 - Représentation des deux types de zymogrammes des Malate-déshydrogénases (M.D.H.) chez *Hedysarum pallidum* Desf.95
- Figure 20 - Représentation des cinq types de zymogrammes des Isocitrate-déshydrogénases (I.C.D.) chez *Hedysarum pallidum* Desf.....98
- Figure 21 - Représentation des cinq types de zymogrammes des Glutamate-oxaloacétate-transaminases (G.O.T.) chez *Hedysarum pallidum* Desf.....99
- Figure 22 - Représentation des douze types de zymogrammes des Estérases (EST) chez *Hedysarum pallidum* Desf.101

P L A N C H E S

Chapitre III - Etude comparative de deux populations d'une espèce tolérante : *Hedysarum pallidum* Desf.

Planche 1 - Aspect de divers individus d'*Hedysarum pallidum* Desf. après huit semaines de culture *in vitro* sur milieu gélosé plus ou moins enrichi en antimoine57

Planche 2 - Aspect de divers individus d'*Hedysarum pallidum* Desf. après huit semaines de culture *in vitro* sur milieu gélosé plus ou moins enrichi en antimoine (suite)59

Planche 3 - Différentes sortes de néoformations dans un cotylédon d'*Hedysarum pallidum* Desf. cultivé sur milieu gélosé enrichi en antimoine (20 p.p.m. de Sb)61

Planche 4 - Embryons somatiques à différents stades de développement observés sur des sections transversales de cotylédons provenant de germinations d'*Hedysarum pallidum* Desf. cultivées sur milieu gélosé enrichi en antimoine (5 p.p.m. de Sb pour C et D et 20 p.p.m. de Sb pour A, B, E, F, G et H). Les semences ont pour origine la zone polluée (population n° 1 pour C et D) et non polluée (population n° 2 pour A, B, E, F, G et H)63

T A B L E A U X

Chapitre I - L'antimoine dans la biosphère, utilité, toxicologie

Tableau I - Variation des teneurs en antimoine dans les milieux nonpollués.....21

Tableau II - Variation des teneurs en antimoine dans les milieux pollués .22

Chapitre II - Action de l'antimoine sur la végétation en zone steppique

Tableau III - Les groupements végétaux sur sol antimonieux du Djebel Hamimat (Algérie).....30

Tableau IV - Concentration de l'antimoine dans les sols et les plantes, mode de résistance40

Chapitre III - Etude comparative de deux populations d'une espèce
tolérante : *Hedysarum pallidum* Desf.

Tableau V -	Nombre de fleurs par pied-mère en fonction du pourcentage de grains de pollen viables	48
Tableau VI -	Essais préliminaires : hauteur de la partie aérienne (en cm) et nombre de feuilles après trois semaines de mise en culture	55
Tableau VII -	Pourcentage d'individus présentant des néoformations sur les cotylédons, l'épicotyle et (ou) l'hypocotyle	64
Tableau VIIIa -	Pourcentage d'individus présentant des néoformations sur la racine.....	65
Tableau VIIIb -	Variabilité chromosomique observée dans les cellules de quelques méristèmes racinaires d' <i>Hedysarum pallidum</i> Desf. prélevés sur les cultures <i>in vitro</i> pour la population des déblais de mine	66
Tableau 9 -	Moyennes et écarts-types en fonction du temps et de la concentration en antimoine dans le milieu	68
Tableau 10 -	Résultats de l'analyse de la variance multivariée, moyennant quatre tests statistiques différents	69
Tableau 11 -	Résultats de la variance univariée	70
Tableau 12 -	Indices de toxicité pour la population des déblais de mine et la population témoin	81
Tableau 13 -	Fréquences (en %) des bandes électrophorétiques des ICD, des GOT et des EST, dans deux populations d' <i>Hedysarum pallidum</i> Desf.....	96

A N N E X E S

Annexe 1 -	Méthode de préparation des extraits de sol et de plantes	120
Annexe 2 -	Composition des milieux de culture	121
Annexe 3 -	Longueurs des racines (en cm) en fonction du temps (en semaines) et de la concentration en antimoine du milieu, pour la population des déblais de mine (<i>Hedysarum pallidum</i> Desf.).....	122
Annexe 4 -	Longueurs des racines (en cm) en fonction du temps (en semaines) et de la concentration en antimoine du milieu, pour la population témoin (<i>Hedysarum pallidum</i> Desf.)	123

Annexe 5 - Longueurs des parties aériennes (en cm) en fonction du temps (en semaines) et de la concentration en antimoine du milieu, pour la population des déblais de mine (<i>Hedysarum pallidum</i> Desf.)	124
Annexe 6 - Longueurs des parties aériennes (en cm) en fonction du temps (en semaines) et de la concentration en antimoine du milieu, pour la population témoin (<i>Hedysarum pallidum</i> Desf.)	125
Annexe 7 - Nombre de feuilles en fonction du temps (en semaines) et de la concentration en antimoine du milieu, pour la population des déblais de mine (<i>Hedysarum pallidum</i> Desf.)	126
Annexe 8 - Nombre de feuilles en fonction du temps (en semaines) et de la concentration en antimoine du milieu, pour la population témoin (<i>Hedysarum pallidum</i> Desf.)	127
Annexe 9 - Données diverses pour la population des déblais de mine (après huit semaine de mise en culture) pour <i>Hedysarum pallidum</i> Desf.	128
Annexe 10 - Données diverses pour la population témoin (après huit semaines de mise en culture) pour <i>Hedysarum pallidum</i> Desf. ...	129
Annexe 11 - Solutions de révélation des systèmes enzymatiques	130

INTRODUCTION

La végétation des zones minières a attiré l'attention de nombreux chercheurs depuis déjà plusieurs décennies. Ceux-ci ont été particulièrement intrigués par la présence d'une flore souvent très différente de celle des sites voisins non contaminés. ERNST (1990) compare les sols métallifères à de très petites îles entourées d'un océan de sols non métallifères, dont les espèces végétales sont non seulement isolées par la distance mais aussi par des conditions écologiques extrêmes.

C'est ainsi que BAUMEISTER (1967), ERNST (1965 et 1968a), KOCH (1932), SCHUBERT (1953 et 1954) et SCHWICKERATH (1931) en étudiant les communautés des sites miniers de zinc et de cuivre d'Allemagne, par le biais des techniques phytosociologiques, conclurent que les plantes des sols contaminés formaient des associations distinctes et facilement identifiables de celles des sols non contaminés. ERNST (1966, 1968b et 1968c) et HEIMANS (1936) en étendant ce travail respectivement à la Hollande, la France et la Grande-Bretagne, arrivèrent à la même conclusion.

ERNST (1965) en reprenant les associations végétales des zones minières déterminées par les autres chercheurs, trouva plusieurs espèces communes entre elles et en déduisit que les similarités entre les communautés étaient si importantes qu'elles ne devaient former qu'une seule classe, le *Violetea calaminariae*.

L'aptitude de certaines espèces à se développer sur des substrats contenant de très fortes teneurs en métaux lourds, normalement très toxiques pour la majorité des autres espèces, est également source de nombreuses questions encore sans réponses pour une grande partie d'entre-elles.

La tolérance des plantes aux métaux lourds fournit, comme le souligne SHAW (1990), un excellent modèle pour l'étude des changements évolutifs survenant dans les populations naturelles. Elle présente également une opportunité pour l'étude des mécanismes d'adaptation des plantes.

Ainsi, plusieurs chercheurs se sont penchés sur les aspects génétiques et évolutifs de la tolérance aux métaux lourds. Il s'agit, entre autres, de ANTONOVICS (1966), GREGORY et BRADSHAW (1965), JAIN et BRADSHAW (1966), JOWETT (1958 et 1964), McNAUGHTON et al. (1974), McNEILLY (1968), McNEILLY et BRADSHAW (1968), TAYLOR et CROWDER (1984) et WILKINS (1957 et

1960). Les recherches ont surtout porté sur de nombreuses espèces de Graminées et sur une à deux espèces de quelques autres familles. Elles n'ont concerné que la tolérance de ces espèces au cuivre, zinc, plomb et nickel.

Cependant, alors que la majorité des résultats confirment l'hypothèse selon laquelle la tolérance aux métaux lourds serait la conséquence d'une évolution et qu'elle apparaîtrait sous l'effet de la pression exercée par la toxicité du milieu, quelques autres résultats (McNAUGHTON et al., 1974 et TAYLOR et CROWDER, 1984) sont par contre en accord avec l'hypothèse stipulant que la tolérance aux métaux lourds est un trait inhérent à l'espèce résistante, qui apparaîtrait en présence du métal, sous l'effet de la sélection naturelle. D'autres recherches sont donc encore nécessaires dans ce domaine pour choisir entre l'une et l'autre des deux hypothèses.

D'autre part, seules quelques études ont été réalisées sur la variabilité enzymatique comparative des populations d'espèces tolérantes et non tolérantes (LEFEBVRE et VERNET, 1990), ne permettant pas d'ailleurs de conclure à l'existence ou non, d'une relation entre la variation électrophorétique et les conditions du milieu. En effet, alors que certains auteurs concluent à une différence dans la variabilité enzymatique entre les populations des zones minières et les populations normales d'une même espèce, d'autres auteurs au contraire, ne trouvent aucune différence entre les deux types de populations.

Les mécanismes d'adaptation et particulièrement les mécanismes physiologiques, ont intéressé de nombreux chercheurs. C'est ainsi que des analyses de plantes se développant sur les substrats très toxiques ont montré que celles-ci pouvaient présenter des quantités très élevées de métaux lourds dans leurs parties aériennes jusqu'à 47000 p.p.m. de nickel (JAFFRE et SCHMID, 1974), 100000 p.p.m. de zinc (CANON, 1960), 40733 p.p.m. de manganèse (JAFFRE, 1979), 1660 p.p.m. de cuivre (DUVIGNEAUD et DENAEYER-DE SMET, 1973), 530 p.p.m. de cobalt (DUVIGNEAUD, 1959) et 265 p.p.m. de cadmium (DENAEYER-DE SMET, 1974). Des tests expérimentaux réalisés avec des espèces tolérantes pour le zinc (TURNER et GREGORY, 1967) et pour le cuivre (BRADSHAW et al., 1965) montrent une plus importante accumulation de ces deux éléments dans les racines que dans les parties aériennes, les teneurs dans les deux parties dépassant largement la concentration du milieu.

Aucune étude n'a porté à notre connaissance, sur les communautés des sites miniers d'antimoine, encore moins en zone semi-aride sur sol calcaire, ou sur les aspects génétiques et évolutifs de la tolérance des plantes à ce toxique. Seuls quelques dosages d'antimoine dans les plantes ont été effectués en U.R.S.S. (FUZAILOV et KHAMIDOV, 1983) et en France (LEDUC et GARDOU, 1992). Or, il existe dans le monde de nombreux sites miniers de ce métal (fig. 1), considéré d'ailleurs comme toxique (BOTHOREL, 1958; HAMMOND, 1978; MANUILA et al., 1981).

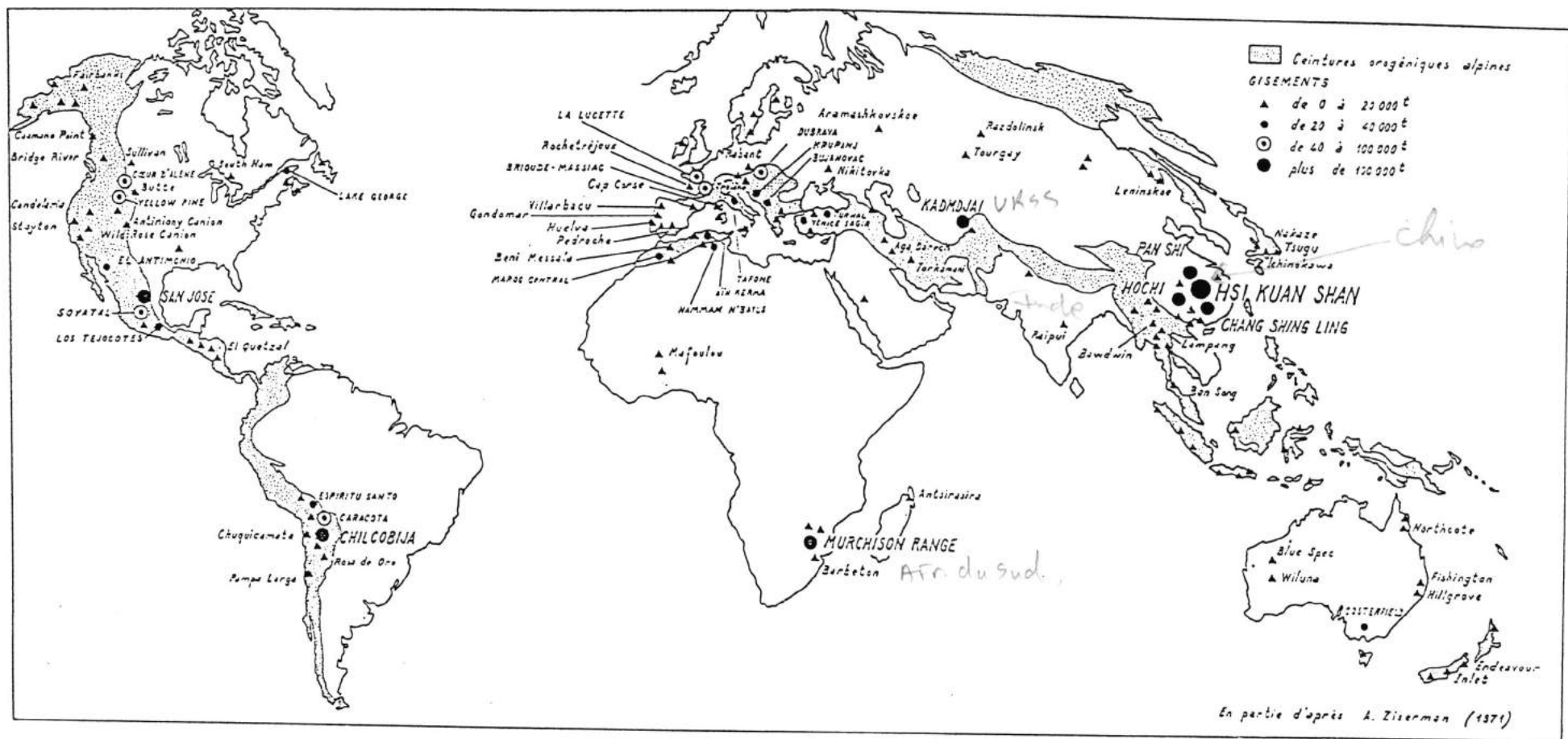


Fig. 1 - L'antimoine dans le monde (d'après PERICHAUD, 1980)

Aussi, l'existence d'une ancienne mine d'antimoine dans le Djebel Hamimat (Est algérien) ayant fait l'objet d'une exploitation à ciel ouvert jusqu'en 1952 (BOISSON et NEYBERGH, 1977) nous a amené à nous poser des questions quant à la flore de cette zone métallifère, aux éventuelles transformations qu'elle aurait subit sous l'effet du toxique et à la présence possible d'espèces tolérantes et accumulatrices. Ceci, d'autant plus que de précédentes analyses géochimiques de sédiments de talweg (SONDAG, 1980) et des sols (RACHED-MOSBAH, 1983) ont montré l'existence d'une dispersion superficielle du toxique, touchant une plus ou moins grande partie de la région environnante (fig. 2). En effet, les déblais de mine, proches des occurrences d'antimoine et situés à proximité du sommet du Djebel sont repris, grâce à l'action des eaux de ruissellement, dans le réseau hydrographique qui contribue ainsi à l'extension de la zone de contamination jusqu'au pied de la montagne. Or, on trouve dans cette région une végétation naturelle de type steppique, faisant partie des terrains de parcours, et accompagnée en bordure du djebel de cultures céréalières.

Le minerai exploité dans la région du Djebel Hamimat est sous forme d'un trioxyde d'antimoine (Sb_2O_3 ; $d=5.3$) à cristallisation octaédrique, appelé sénarmontite (BOISSON et NEYBERGH, 1977). Il est considéré comme très peu soluble dans l'eau par BOTHOREL (1958). Cependant, les sols de la région en question, ayant un pH moyen de 8 et des conditions d'aération favorisant une tension de 700 mV (RACHED-MOSBAH, 1983), présentent, selon le diagramme tension-pH de PITMAN et al. (1963), des ions SbO_3^- en équilibre avec la sénarmontite. Ceci laisse supposer une mise en solution du minerai plus importante en conditions naturelles qu'artificielles et donc la possibilité d'absorption des ions SbO_3^- par les plantes.

Pour essayer de répondre à toutes les questions que nous nous sommes posées et participer, par ailleurs, aux recherches sur l'évolution de la tolérance aux métaux lourds, nous nous proposons d'étudier les communautés végétales de la zone contaminée, par le biais des techniques phytosociologiques, de procéder au dosage de l'antimoine dans les sols et les feuilles de plusieurs espèces et de réaliser des tests expérimentaux et des analyses électrophorétiques comparatifs sur une population normale et une population d'un sol contaminé d'une espèce qui sera apparue au préalable comme tolérante par l'analyse phytosociologique et le dosage de l'antimoine.

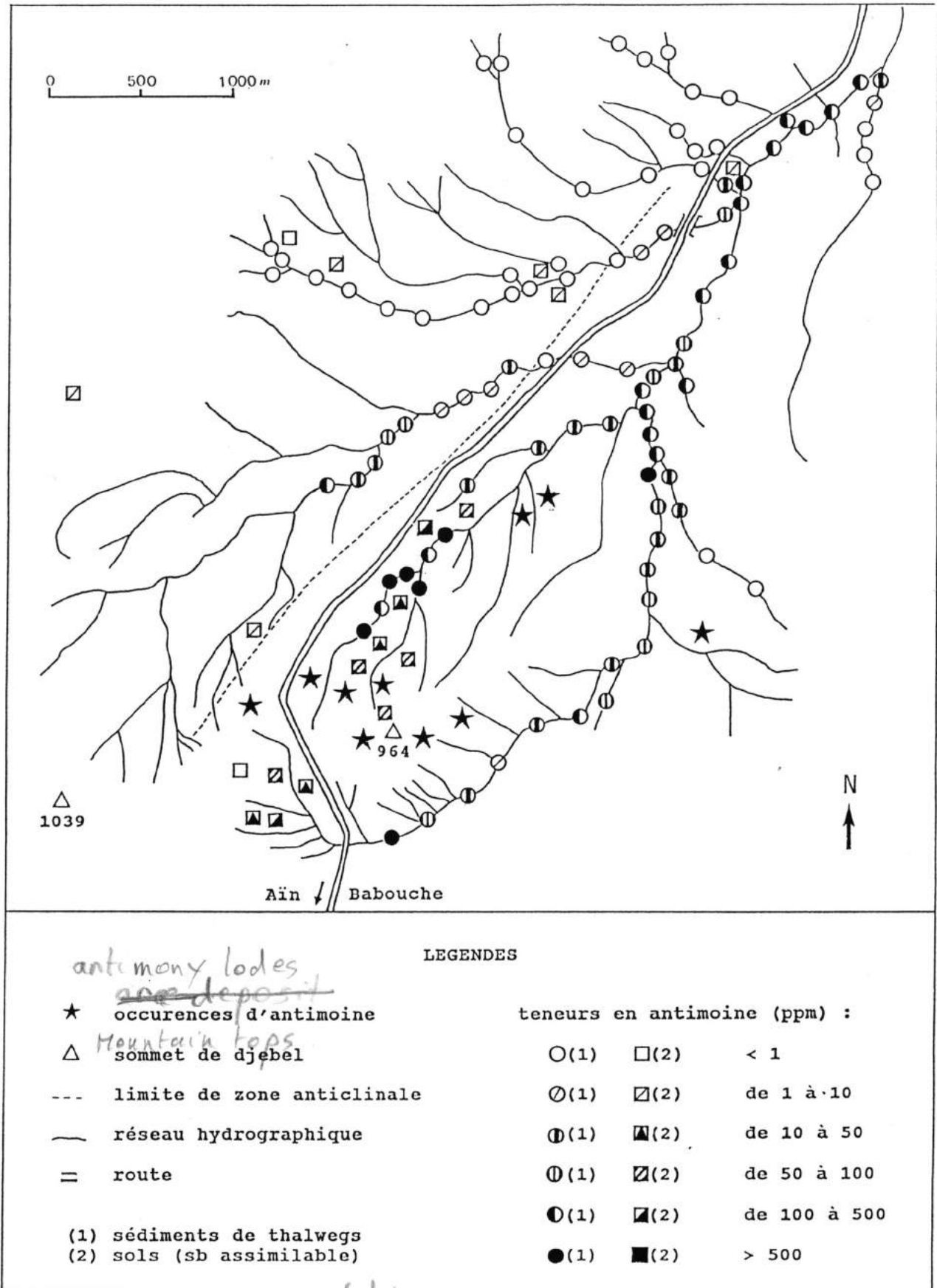


Fig. 2 - Carte des teneurs en antimoine dans le secteur du Djebel Hamimat.
(d'après SONDAG, 1980 et RACHED-MOSBAH, 1983)

CHAPITRE I

* * * * *

L'ANTIMOINE DANS LA BIOSPHERE, UTILITÉ, TOXICOLOGIE

De nombre atomique 51 et de poids atomique 121.75, l'antimoine apparaît dans le groupe V.A. de la table périodique avec l'azote, le phosphore, l'arsenic et le bismuth.

L'antimoine est connu et utilisé depuis la plus haute antiquité. L'origine de son nom, plutôt que due à l'empoisonnement de religieux par des médicaments à base d'antimoine, proviendrait de l'arabe athmond. En latin il se serait transformé en athmodium, athimodium puis antimonium (BOTHOREL, 1958). Selon HACKSPILL et al. (1964), les romains désignaient l'antimoine sous le nom de stibium, de là dérivent le nom moderne de ce minerai, "stibine" et le symbole Sb.

1 - RÉPARTITION ET PRODUCTION DANS LE MONDE

L'antimoine est assez rare dans la nature. En effet, les réserves mondiales de l'antimoine sont estimées à moins de 0.0001% de la croûte terrestre (SMITH, 1973). Cependant, elles correspondraient selon PERICHAUD (1980), à plus de 5 millions de tonnes. D'après ce même auteur, la production mondiale, en constante progression, est passée de 2000 tonnes en 1860 à 70000 tonnes en 1980, et la production mondiale totale a atteint à la même époque 3200000 tonnes.

Les gisements d'antimoine sont exploités un peu partout dans le monde (fig. n° 1) : en Asie, en Europe, en Amérique du Nord et du Sud, en Afrique et même en Océanie. Cependant, les principaux pays producteurs, sur le plan de la production globale (85%), furent depuis 1850 par ordre d'importance : la Chine, la Bolivie, l'Afrique du sud, le Mexique, l'U.R.S.S., la Tchécoslovaquie, la France, les U.S.A., la Yougoslavie et la Turquie. Mais, actuellement, les principaux pays producteurs (91% de la production) sont par ordre d'importance : l'Afrique du Sud, la Bolivie, la Chine, l'U.R.S.S., la Turquie, la Thaïlande, le Mexique, la Yougoslavie, l'Australie et le Maroc (PERICHAUD, 1980).

Selon CHARRIN (1932), la France tenait le deuxième rang en 1930 parmi les pays producteurs d'antimoine; avec sa production de 5000 tonnes, elle arrivait après la Chine qui figurait pour 15000 tonnes. Actuellement la France ne procède presque plus à des extractions minières, mais elle reste un des premiers producteurs mondiaux d'antimoine métal, grâce à ses deux fonderies de Chauny dans l'Aisne et de la Lucette dans la Mayenne (PERICHAUD, 1980).

L'antimoine se rencontre sous de nombreuses formes, mais, selon BOTHOREL (1958), le principal minerai est le sulfure d'antimoine Sb_2S_3 (stibine). La stibine existe en filons indépendants mais aussi à l'intérieur de formations sédimentaires, le plus souvent mélangée à d'autres sulfures. Les plus grandes réserves se trouvent en Chine, mais on le rencontre un peu partout : aux Indes, en Australie et en Europe. La guerre mondiale de 1939-1945 a développé son exploitation en Bolivie, au Mexique, en Yougoslavie, en Tchécoslovaquie, aux Etats-unis, au Canada, en Afrique du Nord et du Sud, au Pérou et en Italie. En Europe, il en existe de grandes quantités au Portugal, en Espagne occidentale, en Allemagne et en France.

D'après le même auteur, les minerais oxydés sont très importants et fournissent un fort pourcentage de métal élaboré. Il en existe divers types; les plus importants sont les oxydes anhydres, la sénarmontite en octaèdres cubiques et la valentinite orthorhombique, tous deux de formule Sb_2O_3 . La sénarmontite se trouve en Algérie (BOISSON et NEYBERGH, 1977; SONATRACH, 1977 et VOUTE, 1957), en Hongrie et au Canada. La valentinite se rencontre en France, en Bohême, en Saxe, en Hongrie, en Algérie et au Canada.

Par ailleurs, l'antimoine existe sous forme d'antimoniures dans un grand nombre de minerais sulfurés et arséniés, en particulier de cuivre, d'argent, de plomb, de fer, de nickel ou de cobalt (HACKSPILL et al., 1964).

2 - USAGES ET TOXICOLOGIE

2.1. USAGES

Selon PERROTEY (1970) près de la moitié de la production mondiale annuelle est consommée comme élément durcissant dans les alliages à base d'étain et surtout de plomb. Les plaques des batteries d'accumulateurs qui doivent présenter une grande résistance sont constituées de plomb allié à environ 6% d'antimoine. Ce pourcentage peut s'élever jusqu'à 30% dans

l'alliage des caractères d'imprimerie, lorsque la meilleure définition possible de ces derniers est recherchée.

L'antimoine est également un constituant essentiel des alliages antifrictions à base d'étain. Il intervient encore dans la composition du métal anglais avec lequel sont fabriqués des ustensiles de cuisine.

Selon le même auteur, le trioxyde est un constituant des peintures blanches et un opacifiant des émaux blancs. Les sulfures servent à vulcaniser le caoutchouc qu'ils colorent en rouge. Oxydés en oxysulfures, ils sont connus en peinture fine sous le nom de vermillon d'antimoine, et le jaune de Naples est constitué d'antimoniates de plomb. Les tissus sont ignifugés par immersion dans une solution de trioxyde ou de trichlorure d'antimoine dans des solvants organiques chlorés.

D'après HAGUENOER et FURON (1982), le dichlorotrifluorure d'antimoine (SbCl_2F_3) sert comme agent de fluoration en synthèse organique, de même que le pentafluorure d'antimoine (SbF_5) qui est également un catalyseur de chloration. L'oxaloantimoniate de potassium ($\text{K}_3\text{Sb}(\text{COO-COO})_3$) est utilisé comme mordant en teinturerie et le tartro-antimoniate de potassium, dans les industries textiles et du cuir.

Selon les mêmes auteurs, le trichlorure (SbCl_3), ou "beurre d'antimoine", est employé comme catalyseur en synthèse organique, pour la fabrication d'autres sels d'antimoine, comme mordant pour les textiles et le cuir, et comme réactif de laboratoire. En solution, il permet le bronzage de l'acier, le mordantage des cuirs, le noircissement du zinc. Il entre dans la fabrication de laques pour bois. Le trifluorure (SbF_3) est un catalyseur employé dans la fabrication de poteries et de porcelaines. Le trisulfure (Sb_2S_3) entre dans la fabrication de feux de bengale, de verre couleur rubis, d'allumettes de sûreté, d'explosifs, de pigments pour peintures, de bombes fumigènes et de balles traçantes.

Selon HAMMOND (1978) et STOKINGER (1981), l'antimoine fait de plus en plus l'objet d'une utilisation dans la fabrication des semi-conducteurs.

Les dérivés d'antimoine sont également utilisés en médecine. Ainsi, d'après HAGUENOER et FURON (1982), les dérivés minéraux, antimoniate acide de potassium et kermès minéral, sont expectorants à doses faibles et émétiques à doses plus élevées. Mais, selon PERROTEY (1970) et MANUILA et al. (1981), ces derniers sont à peu près abandonnés de nos jours, sauf le trichlorure employé comme caustique contre le lupus et les verrues.

Les dérivés organiques sont encore très utilisés comme antiparasitaires, notamment, d'après MANUILA et al. (1981) :

-l'antimoniotartrate acide de potassium ou tartre stibié, ou "émétique", soluble dans l'eau, employé autrefois comme vomitif et antiparasitaire (trypansomiasis et leishmanioses), est actuellement très peu utilisé en raison de sa toxicité, bien qu'on l'ait préconisé dans la schistosomiase et dans le mycosis fongoïde;

-l'antimoniotartrate de sodium, possédant les mêmes propriétés que le tartre stibié, est utilisé à la place de ce dernier en raison de sa toxicité plus faible;

-le stibophène, est utilisé dans les affections parasitaires à schistosomes, à leishmanies et à trypanosomes;

-le stibosamine, est utilisé dans le traitement des leishmanioses et des filarioses;

-le stibogluconate de sodium, est préconisé dans le traitement des leishmanioses.

2.2. TOXICOLOGIE

L'antimoine et ses composés sont considérés comme toxiques (MANUILA et al., 1981; HAMMOND, 1978; BOTHOREL, 1958). En effet, la stibine (SbH_3) volatile, est nuisible à partir de 0.1 p.p.m. dans l'air (HAWLEY, 1977 et HAMMOND, 1978). Elle est produite, selon STOKINGER (1981), chaque fois qu'un acide réagit avec un métal contenant de l'antimoine en impureté. Ses sources de contamination sont les métallurgies, les soudures, le remplissage des ballons d'hydrogène et les laboratoires chimiques.

La limite de toxicité des autres produits sous forme d'aérosols est de 0.5 mg de Sb/m³ d'air (SUNSHINE, 1969; HAWLEY, 1977 et HAMMOND, 1978), cette valeur est préconisée par l'A.C.G.I.H. (American Conference of Governmental Industrial Hygienist) comme T.L.V. (Threshold Limit Value) ou valeur limite acceptable (V.L.A.), qui se réfère à la concentration limite dans l'air à laquelle des travailleurs peuvent être exposés journallement sans risque d'intoxication (SUNSHINE, 1969).

Le centre international de recherche sur l'eau et l'environnement en France, donne comme norme de qualité dans les eaux potables : 10 µg/l de Sb.

La dose toxique d'antimoine chez l'homme, selon MARKERT (1992), est de 100 mg/jour; chez le rat elle est de 10 à 75 mg/jour.

HAGUENOER et FURON (1982) rapportent que les intoxications aiguës, rares en industrie, ont été relativement fréquentes avec les dérivés médicamenteux dont la symptomatologie

est identique à celle de l'arsenic, notamment l'apparition d'un syndrome cholériforme. Cependant, selon le même auteur, quelques accidents aigus ont été provoqués en industrie par les chlorures d'antimoine ($SbCl_3$ et $SbCl_5$) qui sont très volatils, allant jusqu'à la mort par oedème aigu du poumon.

Selon STOKINGER (1981), la stibine (SbH_3) provoque la mort de souris au bout de 4 à 8 heures lors d'une exposition à 30 à 50 p.p.m. de Sb pendant 15 minutes. Ce composé attaque le sang et le système nerveux central. L'empoisonnement entraîne l'apparition de maux de tête, de nausées, de faiblesse, d'un léger souffle cardiaque et d'un pouls faible et irrégulier.

Les intoxications chroniques par les différents composés de l'antimoine entraînent de la fatigue, de l'inappétence, de l'irritabilité, une augmentation de la fréquence des ulcères gastro-intestinaux, des crampes abdominales, des diarrhées et vomissements, des rhinites, des pharyngites, et des troubles respiratoires dont des bronchites, des emphysèmes et des pneumoconioses révélées par radiographie, (HAGUENOER et FURON, 1982).

D'après BOTHOREL (1958), l'absorption prolongée de l'émétique comme médication, aurait pour conséquence une accumulation de l'antimoine dans le foie (200 mg étant la dose létale) avec aggravation des signes cliniques : fatigue, battements de coeur, maux respiratoires, dégénérescence graisseuse et paralysie. Ce médicament serait également responsable d'un nombre élevé de tumeurs de la vessie chez les patients atteints de schistosomiase et traités par ce dérivé de l'antimoine (ABDEL-DAIM et al., 1969).

STOKINGER (1981) rapporte que des chercheurs, après avoir testé cinq composés inorganiques d'antimoine estimèrent que le Sb_2O_3 en était le moins toxique. En effet, la D.L.50 (dose létale 50% ou dose entraînant la mort de 50% des individus testés) est de 3.25 g/kg de poids corporel pour ce composé, alors qu'elle n'est que de 0.1 g/kg pour le métal et de 1g/kg pour le trisulfure. Cependant, selon cet auteur, d'autres chercheurs, en soumettant des cochons d'Inde à l'inhalation journalière de teneurs élevées de Sb_2O_3 (45 mg/m³ d'air), observèrent des pneumonies chez tous les animaux, une dégénérescence graisseuse du foie chez la plupart et une hypertrophie de la rate avec diminution du nombre de leucocytes polynucléaires éosinophiles. Il notèrent par contre, que les électrocardiogrammes étaient normaux, ainsi que les reins.

Le Sb_2S_3 est approximativement 3.5 fois plus toxique que le Sb_2O_3 pour le rat (SPECTOR, 1955). Des rats, des lapins et des chiens exposés pendant 7 heures par jour à des inhalations de Sb_2S_3 montrent au bout de 6 semaines, des désordres fonctionnels du coeur et une dégénérescence parenchymateuse du myocarde à partir de 3.07 à 5.6 mg de Sb/m³ d'air (STOKINGER,

1981). Selon le même auteur, des cas de lésions cardiaques et des morts soudaines ont été rapportées chez des ouvriers exposés au Sb_2S_3 . Les expositions journalières variaient alors de 3 à 5.5 mg de Sb/m³ et l'antimoine dans les urines de 0.8 à 9.6 mg/l. De telles perturbations n'ont pas été observés chez les travailleurs d'une usine de production de Sb_2O_3 . Ce qui suggère donc encore une fois que les sulfures sont plus toxiques que les oxydes (SPECTOR, 1955). Ceci est encore renforcé par un rapport sur l'empoisonnement au Sb_2S_5 dans une usine de verre à Milan. Les travailleurs se plaignirent de nausées, vomissements, diarrhées et d'un goût amer après 3 à 20 jours d'exposition. Il y eut une hypertrophie du foie et des douleurs abdominales qui durèrent 8 jours. Tous les travailleurs affectés avaient dans leurs urines des teneurs en antimoine allant de 30 à 210 µg/l (STOKINGER, 1981). D'autre part, selon le même auteur, il a été rapporté, après de longues observations sur des travailleurs produisant du Sb_2O_3 à partir de minerais sulfurés, l'apparition de dermatites appelées tâches d'antimoine (pustules ressemblant à celles de la varicelle) et des modifications radiographiques des poumons ou pneumoconioses, pour des expositions à des teneurs d'antimoine dans l'air de 0.5 à 5.3 mg/m³ d'air et des taux de 425 à 680 µg/l de Sb dans les urines. Mais aucun des symptômes d'empoisonnement par le sulfure d'antimoine n'a été observé.

Dans l'ex Union-Soviétique, il est rapporté une grande fréquence d'avortements spontanés, de naissances prématurées et d'affections gynécologiques chez des ouvrières d'une métallurgie, exposées à des aérosols d'antimoine trioxyde et pentasulfure. Toutes les ouvrières examinées présentaient à l'analyse des taux élevés d'antimoine, non seulement dans le sang et l'urine mais aussi dans le lait et le placenta (STOKINGER, 1981).

3 - L'ANTIMOINE DANS LA BIOSPHERE

3.1. L'ANTIMOINE DANS LES REGIONS NORMALES

L'antimoine se retrouve à de très faibles concentrations, dans différents milieux naturels et organismes vivants éloignés de toute source de pollution.

Ainsi selon MARKERT (1992), les teneurs moyennes normales d'antimoine dans les sols se situeraient entre 0.01 et 1 p.p.m. et dans les plantes elles seraient entre 0.1 et 200 p.p.b.. Par contre ROSE et al. (1979) trouvent 2 p.p.m. dans les sols, 1 p.p.m. dans les plantes et 2 p.p.b. dans les eaux douces. LEVINSON (1974) quant à lui, détermine 5 p.p.m. dans les sols et 1 p.p.b. dans les eaux douces.

LISK (1972) rapporte les teneurs suivantes comme concentrations moyennes normales : 6 p.p.m. dans les sols, 0.1 p.p.b. dans les eaux douces, 0.3 p.p.b. dans l'eau de mer et 0.2 p.p.m. dans les poissons marins.

Au nord-est de l'océan pacifique, ROBERTSON et al. (1968) cités par AMIARD (1973) , ont déterminé 0.17 p.p.b. d'antimoine dans les eaux et 0.3 à 2.5 p.p.b. dans le plancton. Le saumon, analysé par COOPER (1968) cité par AMIARD (1973), contient de 0.2 à 0.9 p.p.b. d'antimoine.

Dans les aliments, EVANS et al. (1979) trouvent jusqu'à 5 p.p.b. dans la farine de blé, 2 à 31 p.p.b. dans les épinards, 47 à 120 p.p.b. dans le chou et 11 p.p.b. dans le thon.

L'analyse des aliments de bétail en Ontario (Canada), dans des régions éloignées de toute source de contamination et n'ayant reçu aucun métal sous forme d'engrais, a permis de déterminer de 129 à 191 p.p.b. d'antimoine dans le foin, de 103 à 176 p.p.b. dans les grains de céréales et de 122 à 152 p.p.b. dans le fourrage de céréales (FRANK et al., 1985).

Les différences qu'on remarque d'un auteur à l'autre, entre les teneurs en antimoine d'un même type de milieu ou d'un même type d'organisme, pourraient s'expliquer par le fait que les échantillons ont des provenances différentes.

Le tableau récapitulatif suivant, permet de se rendre compte de l'amplitude de la variation de ces teneurs :

Tableau I - Variation des teneurs en antimoine dans les milieux non pollués.

Sol	: 0.1 p.p.m. à 6 p.p.m.
Plantes	: 0.1 p.p.b. à 1 p.p.m.
Fourrage	: 103 p.p.b. à 191 p.p.b.
Eaux douces	: 0.1 p.p.b. à 2 p.p.b.
Eau de mer	: 0.17 p.p.b. à 0.3 p.p.b.
poissons	: 0.2 p.p.b. à 0.2 p.p.m.

Ainsi on constate que ces valeurs sont relativement peu élevées puisqu'elles sont toutes inférieures aux normes de qualité de l'eau potable en France (cf. chapitre I,2.2).

3.2. L'ANTIMOINE DANS LES MILIEUX CONTAMINES

Dans la vallée de Fergana, deuxième région minière productrice d'antimoine de l'ancienne U.R.S.S., FUZAILOV et MADRAKHIMOV (1982) déterminent de 0.04 à 0.3 mg/l de Sb dans l'eau des sources et 0.32 p.p.m. en moyenne dans les fruits et légumes de la région. Dans la même région, FUZAILOV et KHAMIDOV (1983) déterminent dans les sols, aux approches de la mine, 13 p.p.m. dans l'horizon de surface et 22.95 p.p.m. en moyenne dans l'horizon B. Ils trouvent dans les plantes des concentrations allant de 2.4 à 3.62 p.p.m..

Un test biogéochimique réalisé en France (aux Brouzils, en Vendée), sur des gîtes d'antimoine, par LEDUC et GARDOU (1992), a mis en évidence dans les plantes, des teneurs en antimoine allant de 0.02 à 0.23 p.p.m. chez le chêne pédonculé, de 0.06 à 0.16 p.p.m. chez l'aubépine et de 0.04 à 0.16 p.p.m. chez le charme. Dans les sols ces mêmes auteurs ont déterminé des concentrations en antimoine allant de 12 à 105 p.p.m..

Aux alentours d'une fonderie de l'ancienne U.R.S.S., MANKOVSKA (1986) trouve de 2 à 11 p.p.m. dans les sols et de 0.5 à 2 p.p.m. dans les aiguilles de Pin.

WIJNDAELE et COTTENIE (1981) déterminent, à proximité de fonderies d'antimoine et de plomb en Belgique, des taux d'antimoine dans le sol de 330 p.p.m. en moyenne et dans les plantes de 100 à 1500 p.p.m..

Des algues vertes cultivées en plein air en Thaïlande et dans une région polluée en Allemagne, par PAYER et al. (1976), présentent respectivement dans chacun des deux pays : 0.18 à 1.014 p.p.m. d'antimoine pour le premier et 0.32 à 2.13 p.p.m. pour le second.

EVANS et al. (1980) indiquent que les cendres produites par la centrale énergétique de Savannah River en Caroline du Sud présentent jusqu'à 19 p.p.m. d'antimoine. FURR et al. (1976) trouvent quant à eux 5.3 p.p.m. de Sb dans les cendres de la centrale énergétique de Lansing en Virginie. En faisant développer des plantes comestibles sur des sols amendés avec 10% de leur poids en cendres, ces mêmes auteurs trouvent : 0.4 p.p.m. dans les haricots et les carottes, 2 p.p.m. dans les choux, 0.6 p.p.m. dans le mil, 2.2 p.p.m. dans les oignons, 0.7 p.p.m. dans les pommes de terre et 1.1 p.p.m. dans les tomates. Ces auteurs considèrent ces valeurs comme très élevées et déconseillent l'utilisation des cendres en question dans l'amendement des sols.

Selon DAVIS et al. (1978), la productivité de l'orge, en culture expérimentale sur sable, est réduite de 10% lorsque

la concentration est de 100 p.p.m. de Sb sous forme de $Sb_2(SO_4)_3$, la plante ne présentant pas pourtant de teneur détectable en antimoine dans ses tissus.

HARA et al. (1977), cités par MACNICOL et BECKETT (1985), trouvent que la teneur maximale critique d'antimoine dans les feuilles de chou, réduisant sa productivité de 10%, est de 1 à 2 p.p.m..

La synthèse de ces données, portée dans le tableau II ci-dessous, permet de voir que celles-ci sont en général, beaucoup plus élevées dans les régions industrielles que dans les régions minières. Cependant, si les valeurs supérieures dépassent largement celles qui ont été enregistrées dans les régions naturelles (cf. tableau I), les valeurs inférieures par contre, s'en rapprochent beaucoup dans la majorité des cas. Mais, les concentrations déterminées dans les eaux de source des régions minières sont excessivement élevées relativement à celles des régions normales (cf. tableau I). En effet, on passe de 2 p.p.b. dans les régions non polluées à 40 p.p.m. dans les régions minières.

Tableau II - Variation des teneurs en antimoine dans les milieux pollués.

MILIEUX	TENEURS (p.p.m.)	
	Régions minières	Régions industrielles
sols	13 à 105	2 à 300
plantes	0.02 à 3.62	0.5 à 1500
fruits et légumes	0.32	—
cendres	—	5.3 à 19 (*)
eaux de source	40 à 300	—

(*) alentours de centrales énergétiques

Les plantes des régions minières semblent prélever très peu d'antimoine comparées à celles qui accumulent d'autres métaux lourds (cf. Introduction). Par contre, les teneurs en antimoine déterminées dans les plantes des régions industrielles paraissent excessivement élevées, mais, il s'agit en fait beaucoup plus de retombées atmosphériques que de teneurs réellement prélevées par les plantes.

4 - CONCLUSION

L'antimoine, considéré comme élément toxique est encore très exploité de nos jours et utilisé dans des domaines très variés. Il peut donc être à l'origine de différents types de pollutions et entraîner par sa présence des perturbations plus ou moins importantes au sein des écosystèmes.

CHAPITRE II

* * * * *

ACTION DE L'ANTIMOINE SUR LA VÉGÉTATION EN ZONE STEPPIQUE

La méthode phytosociologique, considérée comme le meilleur système semi-quantitatif de classification des communautés de plantes (ANTONOVICS et al., 1971) et appliquée avec succès aux communautés de plantes des sols contaminés par d'autres métaux lourds (cf. Introduction) nous a paru la plus appropriée pour l'étude de l'impact de l'antimoine sur la végétation du Djebel Hamimat, et pour la classification des espèces végétales de cette région selon leur comportement vis-à-vis du toxique.

Des comparaisons entre les teneurs en antimoine des sols et des parties aériennes de quelques-unes de ces espèces s'avèrent être nécessaires pour déterminer leurs modes de tolérance.

1 - ETUDE PHYTOSOCIOLOGIQUE (RACHED-MOSBAH et GARDOU, 1988)

1.1. METHODES D'ECHANTILLONNAGE et D'ANALYSES CHIMIQUES

Les groupements végétaux ont été définis sur une base floristique par comparaison de relevés de terrain effectués selon les principes sigmatistes. La technique utilisée pour le traitement informatique des données floristiques est l'analyse factorielle des correspondances, développée par CORDIER (1965) et BENZECRI (1966, 1976).

Le choix de l'emplacement des relevés a été fait en tenant compte, non seulement de la géomorphologie, mais encore des concentrations d'antimoine dans les sols. Celles-ci ont été déterminées à la suite de plusieurs prélèvements préliminaires de sols ou bien déduites de la carte des concentrations d'antimoine établie par SONDAG (1980) le long de quelques talwegs de la région étudiée (Fig. 2).

Les filons de minerai étant éparpillés sur les pentes du Djebel Hamimat, les concentrations en antimoine du sol sont anormalement élevées au voisinage des puits de mine. Elles diminuent progressivement, sur les pentes et glacis, au fur et à mesure que l'on s'éloigne des forages, les zones de ravinement restant les plus riches en toxique. Au pied du bassin minier, les bords de l'oued sont, de nouveau, fortement contaminés, formant ainsi une "auréole de contamination" similaire à celle que décrivent DUVIGNEAUD et DENAEYER-DE SMET (1960) pour les sols du Haut Katanga.

Plusieurs zones d'échantillonnage, correspondant à diverses teneurs en antimoine, ont ainsi été dégagées sur le djebel étudié :

- une zone de pentes et de glacis, à mi-versant,
- une zone de terrasses, en bas de versant, en bordure de l'oued,
- une zone de ravinements, situés dans le bassin de réception de l'oued, plus ou moins à proximité des anciennes sorties de mines.

Dans chaque zone il a été fait en sorte que la seule variable soit la concentration en antimoine dans le sol, toutes les autres variables restant pratiquement constantes.

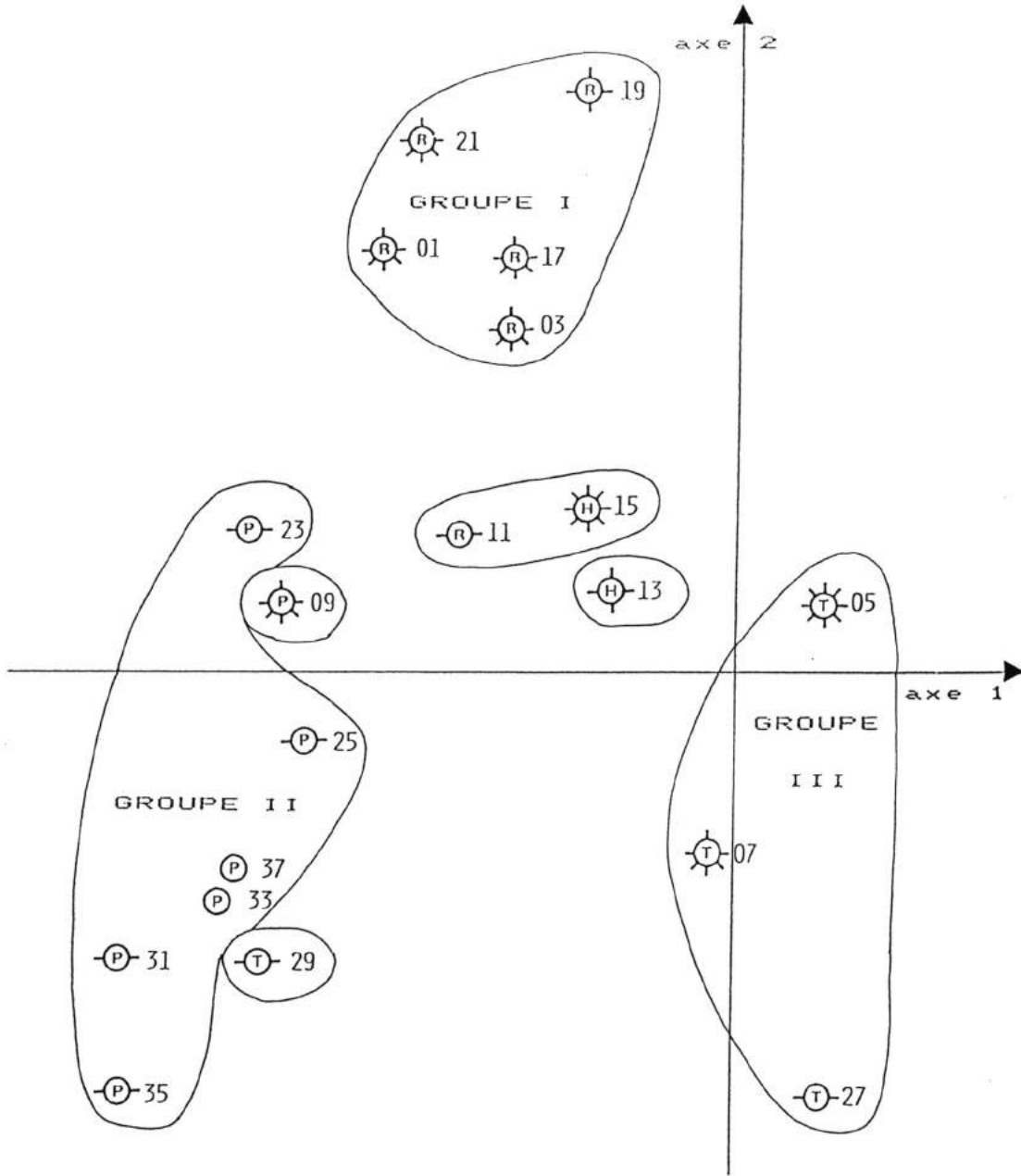
En vue de déterminer la teneur des sols en antimoine, un échantillon de surface (0-20 cm) a été prélevé aux emplacements mêmes des relevés phytosociologiques. Les méthodes d'extraction de l'antimoine total et de l'antimoine assimilable dans les sols (annexe 1) sont celles décrites par COTTENIE et al. (1979a). Cependant, pour l'antimoine assimilable, l'acide nitrique 2N a été utilisé au lieu de l'acide nitrique 0.5N, en raison de la grande richesse des sols en carbonate empêchant l'obtention d'un pH inférieur à 1.

L'antimoine a été dosé au spectrophotomètre d'absorption atomique, à une longueur d'onde de 217.6 nm.

1.2. TYPOLOGIE SYNTAXONOMIQUE DES RELEVES

L'analyse factorielle des correspondances permet d'identifier trois groupes de relevés principaux (Fig. 3 et 4):

- le groupe I, relevés 1, 3, 17, 19 et 21,
- le groupe II, relevés 23, 25, 31, 33, 35, et 37,



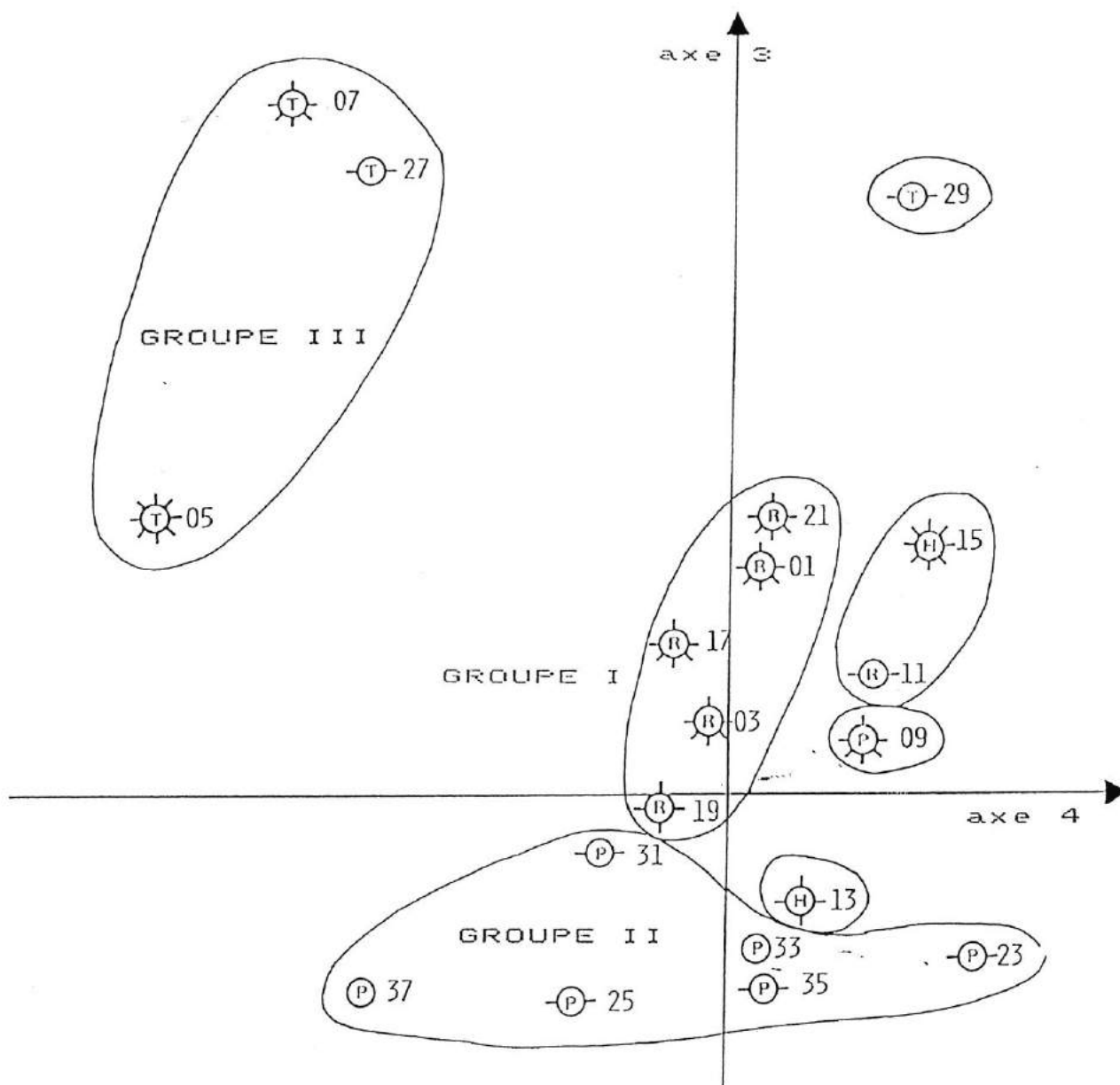
Légende

Taux d'antimoine assimilable

- Traces, Sb < 2,5 ppm
- 2,5 ppm < Sb < 20 ppm
- 20 ppm < Sb < 40 ppm
- 40 ppm < Sb < 60 ppm
- Sb ≥ 60 ppm

- 37 : numéro de relevé
- H : halde
- P : pente ou glaciais
- R : ravine
- T : terrasse

Fig. 3 - Carte factorielle des relevés, axes 1-2 (taux d'antimoine assimilable du sol et variables géomorphologiques en projection sur les points représentant les relevés)



Légende

Taux d'antimoine assimilable

- Traces, Sb < 2,5 ppm
- 2,5 ppm < Sb < 20 ppm
- ⊙ 20 ppm < Sb < 40 ppm
- ⊙ 40 ppm < Sb < 60 ppm
- ⊙ Sb ≥ 60 ppm

○ 37 : numéro de relevé

- H : haldes
- P : pente ou glacis
- R : ravine
- T : terrasse

Fig. 4 - Carte factorielle des relevés, axes 3-4 (taux d'antimoine assimilable du sol et variables géomorphologiques en projection sur les points représentant les relevés)

- le groupe III, relevés 5, 7 et 27.

D'autres relevés se rapprochant de l'un des trois groupes précédents sur un graphe et s'en éloignant sur l'autre, doivent donc en être séparés. Il s'agit des relevés 9, 11, 13, 15 et 29.

Le classement des espèces, participant à l'un ou l'autre de ces trois groupes de relevés, a permis d'identifier trois groupements végétaux dont la position phytosociologique est donnée dans le tableau III.

1.2.1. Le Groupe I

Par comparaison avec la bibliographie phytosociologique existante on constate (Tableau III) que ce groupe peut être rattaché à la classe des *Cisto-Rosmarinetea* Rivas-Goday 1964, Ordre des *Rosmarinetalia* Br.-Bl. 1931. La présence d'espèces telles que *Onobrychis pallasii* (Willd.) Bieb. et *Hedysarum pallidum* Desf. permet de penser qu'il s'agit d'un groupement proche de celui décrit par GUINOCHET (1980) sous le nom de *Fumano ericoidis-Bupleuretum balansae*, dans lequel un certain nombre d'espèces caractéristiques auraient disparu. En effet, on peut noter quelques différences d'ordre floristique entre les relevés du groupe I et ceux du groupement précité :

-*Buplerum balansae* B. et R., *Coronilla juncea* L., *Fumana ericoides* (Cav.) et *Odontites purpurea* Don que GUINOCHET (1980) considère aussi comme espèces caractéristiques d'association ne sont pas présentes dans notre dition;

-*Thymus algeriensis* B. et R. que l'auteur précité considère aussi comme caractéristique de cette association déborde largement de ce groupe de relevés et doit, pour cette raison, être rapproché des espèces dites "steppiques" que nous avons réunies au bas du tableau III.

1.2.2. Le Groupe II

Ce groupe II, formé par les relevés 23, 25, 31, 33, 35 et 37, est floristiquement bien individualisé et nettement opposable aux deux autres groupes de relevés. Du point de vue floristique il possède encore quelques espèces caractéristiques des *Cisto-Rosmarinetea* Rivas-Goday 1964, mais il comporte surtout de nombreuses espèces thérophytes appartenant à la classe des *Thero-Brachypodietea* Br.-Bl. 1947 et à ses syntaxons subordonnés. L'association à laquelle on pourrait rattacher ce groupe serait l'*Asterico maritimi-Convulvuletum lineati* décrite par GUINOCHET (1977) dont il possède un grand nombre d'espèces caractéristiques (Tableau III).

Tableau III - Les groupements végétaux sur sol antimonieux du Djebel Hamimat (Algérie)

Groupes de relevés	GROUPE I					9	GROUPE II							GROUPE III			11	13	15
	3	17	1	21	19		23	25	31	33	35	37	29	27	7	5			
Antimoine total du sol (ppm.)	1215	2203	10075	3766	1575	22650	18	36	28	9	24,5	18	24	21	8275	56400	4825	16000	19850
Antimoine assimilable du sol (ppm.)	57,5	56	50	42	36	60	3,8	3,5	7,1	tr.	8	tr.	5,4	4,4	60	157,5	17,5	27,5	167,5
ASSOCIATION : FUMANO-ERICOIDIS BUPLEURETUM BALANSAC																			
résistante à l'antimoine																			
<i>Onobrychis pallasii</i> (Willd.) Dieb.																			
indifférente à l'antimoine																			
<i>Hedysarum pallidum</i> Desf.																			
CLASSE : CISTO-ROSMARINEI EA ET SYNTAXONS SUBORDONNES																			
résistantes à l'antimoine																			
<i>Centaurea parviflora</i> Desf.																			
<i>Asperula cynanchica</i> L. ssp. <i>aristata</i> (L.f.) Beg.																			
<i>Helichrysum stoechas</i> (L.) Moench																			
<i>Galium mollugo</i> L. ssp. <i>caerulifolium</i> (VIII.) Rouy																			
<i>Picris aculeata</i> Vahl																			
indifférentes à l'antimoine																			
<i>Ampelodesmos mauritanica</i> (Poirlet) Dur. et Sch.																			
<i>Asperula hirsuta</i> L.																			
<i>Avena bromoides</i> (Gouan) H. Scholz																			
<i>Glebularia olivum</i> L.																			
<i>Fumana thymifolia</i> (L.) Spach ex Webb																			
<i>Helianthemum cinereum</i> (Cav.) Pers. ssp. <i>rubellum</i> (Presl.) M.																			
<i>Teucrium pseudochamaepitys</i> L.																			
<i>Ebenus pinnata</i> L.																			
<i>Ononis pusilla</i> L.																			
<i>Catananche caerulea</i> L.																			
COMPAGNES DU GROUPE I																			
résistantes à l'antimoine																			
<i>Hysneris radiata</i> L. ssp. <i>crassifolia</i>																			
<i>Cymbopogon schoenanthus</i> L.																			
<i>Pituranthos chloranthus</i> (Coss. et Dur.) Benth. et Hook.																			
<i>Hypochaeris glabra</i> L.																			
Indifférentes à l'antimoine																			
<i>Centaurea incana</i> Desf. ssp. <i>pubescens</i> (Willd.) M.																			
<i>Moricandia arvensis</i> (L.) DC.																			
<i>Achillea santolinoides</i> Lag.																			
<i>Picris cupuligera</i> (Dur.) Wallp.																			
<i>Cuscuta epithymum</i> L.																			
ASSOCIATION : ASTERICO MARITIMI-CONVOLVULETUM LINEATI																			
non résistante à l'antimoine																			
<i>Pallenis spinosa</i> (L.) Coss.																			
Indifférentes à l'antimoine																			
<i>Convolvulus lineatus</i> L.																			
<i>Eryngium triquetrum</i> Vahl																			
<i>Echinops spinosus</i> L.																			
<i>Rhoptanthum scoule</i> (L.) DC.																			
<i>Carduncellus pinnatus</i> (Desf.) DC.																			
<i>Scabiosa atropurpurea</i> L. ssp. <i>maritima</i> (L.) Fiori et Pool.																			
ALLIANCE : ATRACTYLO-STIPION CAPENSIS																			
non résistante à l'antimoine																			
<i>Atractylis cancellata</i> L.																			
<i>Stipa capensis</i> Thunb.																			
indifférentes à l'antimoine																			
<i>Plantago albicans</i> L.																			
<i>Stipa parviflora</i> Desf.																			
CLASSE : THIERO-BRACHIYPODIETEA																			
non résistante à l'antimoine																			
<i>Scorpiurus muricatus</i> L.																			
<i>Anthyllis tetraphylla</i> L.																			
<i>Hippocrepis unisiliquosa</i> L. ssp. <i>lineata</i> M.																			
<i>Scabiosa stellata</i> L.																			
<i>Linum strictum</i> L.																			
<i>Euphorbia falcata</i> L.																			
<i>Xeranthemum inapertum</i> (L.) Miller																			
Indifférentes à l'antimoine																			
<i>Hedysarum cretica</i> (L.) Dum. - Courset																			
<i>Medicago minima</i> (L.) Bartal.																			
<i>Sylvia verbenaca</i> (L.) Briq.																			
<i>Aegilops triuncialis</i> L. ssp. <i>ovata</i> L.																			
<i>Plantago arenaria</i> Waldst. et Kit.																			
<i>Gynandris sisyrrinchium</i> (L.) Parl.																			

1.2.3. Le Groupe III

Ce groupe est formé de trois relevés (n° 5, 7 et 27). Le nombre de relevés étant très faible, il est difficile d'en déterminer l'association de rattachement. Ce groupement est enrichi en espèces thérophytes, dérivant de jachères et de groupements cultigènes, se rapportant à la classe des *Stellarietea mediae* (Br.- Bl. 1931) Lohm., Preisg et Tx. 1950 p.p. et à ses syntaxons subordonnés (Tableau III). On y rencontre aussi quelques espèces thérophytes transgressives de la classe des *Thero-Brachypodietea* Br.- Bl. 1947 et de ses syntaxons subordonnés, ce qui permet de faire le lien avec le groupement précédent.

1.2.4. Relevés marginaux

Le relevé 9 est placé sur les cartes factorielles, axes 1-2 (Fig. 3) et axes 3-4 (Fig. 4) soit à proximité du groupe II, soit en position intermédiaire entre les groupe I et II. Du point de vue floristique on peut considérer qu'il s'agit d'un relevé intermédiaire entre les deux premiers groupements identifiés précédemment puisque les espèces caractéristiques qu'il contient, 5 pour les *Thero-Brachypodietea* Br.- Bl. 1947 et 4 pour les *Cisto-Rosmarinetea* Rivas-Goday 1964, ne permettent pas de trancher pour l'un ou l'autre syntaxon.

Le relevé 29 est placé sur les cartes factorielles (Fig. 3 et 4), soit à proximité du Groupe II, soit entre les Groupes I et III. Par sa composition floristique on peut le rapprocher de l'*Asterico maritimi-Convolutum lineati* Guinochet 1977 (12 espèces caractéristiques) dans lequel on peut noter un enrichissement notoire en espèces des *Stellarietea mediae* (Br.- Bl. 1931) Lohm., Preisg. et Tx. 1950 (8 espèces caractéristiques).

Les relevés 11, 13 et 15, en position centrale sur les cartes factorielles (Fig. 3 et 4) sont difficiles à interpréter. En effet ils sont floristiquement appauvris et les quelques espèces qu'ils contiennent encore ne représentent plus qu'un squelette de ce qui aurait pu être une association (Tableau III).

1.3. ACTION DE L'ANTIMOINE SUR LA VEGETATION

Notre problématique était non seulement la diagnose d'une typologie synsystématique, mais encore de trouver, à travers la phytosociologie, un descripteur des relations sol-plantes.

L'action de l'antimoine sur la végétation a été abordée par deux approches :

- à l'aide des cartes factorielles axes 1-2 et axes 3-4 (Fig. 3 et 4) sur lesquelles nous avons projeté les variables géomorphologiques ainsi que les taux d'antimoine du sol (Sb assimilable), afin de déterminer la signification écologique des groupements floristiques décrits précédemment;

- à l'aide du tableau phytosociologique (Tableau III) sur lequel nous avons ajouté les taux d'antimoine du sol (Sb assimilable et Sb total) de chacune des stations étudiées, de façon à classer les espèces en fonction, non seulement de leur appartenance à un groupement floristique, mais aussi de leur réaction vis-à-vis de l'élément toxique du sol.

1.3.1. Action de l'antimoine sur les groupements floristiques

1.3.1.1. Le Groupe I

La projection, sur les cartes factorielles des relevés (Fig. 3 et 4) des variables géomorphologiques ainsi que des taux d'antimoine assimilable du sol permet de constater que le Groupe I correspond aux bordures de ravinements situés sous les sorties de mines et que les taux d'antimoine assimilable y sont supérieurs à 20 p.p.m. Le tableau III indique, pour les sols de ce groupe I, 36 p.p.m. à 57.5 p.p.m. pour l'antimoine assimilable et 1215 à 10875 p.p.m. pour l'antimoine total.

Cette localisation géomorphologique, outre la présence d'antimoine, représente un biotope tout à fait original : de par le ravinement, la roche mère calcaire et marno-calcaire y est à nu, formant des lithosols dans la plupart des stations. Quelques espèces chasmophytes telles *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. ou *Pithuranthos chloranthus* (Coss. et Dur.) Benth. et Hook. soulignent d'ailleurs le caractère rocailleux du substrat. La proximité du talweg permet l'apparition d'espèces ripicoles, transgressives de la classe des *Nerio-Tamariscetea* Br.- Bl. et O. de Bolos 1957 telles que *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter.

Par ailleurs, si on compare le nombre d'espèces caractéristiques du *Fumano ericoidis-Bupleuretum balansae* contenu dans le Groupe I et celui de l'association type décrite par GUINOCHE (1980) on constate que ce groupe I contient environ 47% des espèces caractéristiques données par cet auteur.

La réduction du nombre d'espèces caractéristiques pourrait-elle être due à la présence d'antimoine dans le sol ? La comparaison des cinq relevés du groupe I entre eux paraît très instructive à cet égard.

D'un point de vue quantitatif, si, dans chaque relevé de ce groupe, on rapporte le nombre d'espèces caractéristiques au taux d'antimoine assimilable du sol correspondant on constate (Fig. 5) que plus ce taux augmente, plus le nombre d'espèces caractéristiques contenues dans ces relevés diminue. Le calcul du coefficient de corrélation ($r = - 0.9662$ pour une probabilité de 0.01) montre que ces deux variables ne sont pas indépendantes, mais liées par une corrélation négative. La liaison est encore meilleure lorsqu'on compare le nombre total d'espèces de chaque relevé au taux d'antimoine assimilables du sol de chacune des stations de ce groupe. Le coefficient de corrélation calculé dans ce cas ($r = - 0.9657$) correspond à une probabilité de 0.01. Dans ces deux cas le coefficient r étant voisin de 1, la liaison est très étroite.

Dans ce groupement, il semble donc qu'une augmentation de la teneur en antimoine du substrat puisse être corrélée à une diminution du nombre d'espèces végétales. D'ailleurs, les relevés 13 et 15, placés immédiatement au-dessous de haldes, semblent très instructifs à cet égard. Les teneurs en antimoine du substrat y sont parmi les plus élevées du secteur : 16800 p.p.m. (rel. 13) et 19850 p.p.m. (rel. 15) pour l'antimoine total, 27.5 p.p.m. (rel. 13) et 167.5 p.p.m. (rel.15) pour l'antimoine assimilable. Il s'agit, nous l'avons vu précédemment, de relevés floristiquement très appauvris : 12 espèces pour le relevé 15 et 6 espèces pour le relevé 13.

Cependant, pour étayer ces observations, il serait intéressant, d'une part d'augmenter le nombre de relevés en bordure de ravine contaminés, d'autre part de comparer leur composition floristique avec quelques relevés réalisés dans des ravine exempts de toxique.

1.3.1.2. Le Groupe II

La projection des variables géomorphologiques sur la carte factorielle axes 1-2 (Fig. 3) montre qu'il s'agit d'un groupe de relevés effectués sur pentes et glacis. Les taux d'antimoine du sol y sont faibles : de traces à 8 p.p.m. pour l'antimoine assimilable et de 9 à 36 p.p.m. pour l'antimoine total (Tableau III).

Les taux d'antimoine du sol y étant très faibles, il est difficile de déceler une influence du toxique sur la végétation. En particulier, contrairement à ce que l'on pouvait observer dans le groupe I, il ne semble pas y avoir de corrélation entre la variation du taux de toxique dans le sol et le nombre d'espèces de chaque relevé : il est vraisemblable que nous nous trouvons, dans ce cas, en-dessous du seuil d'action du toxique sur la végétation.

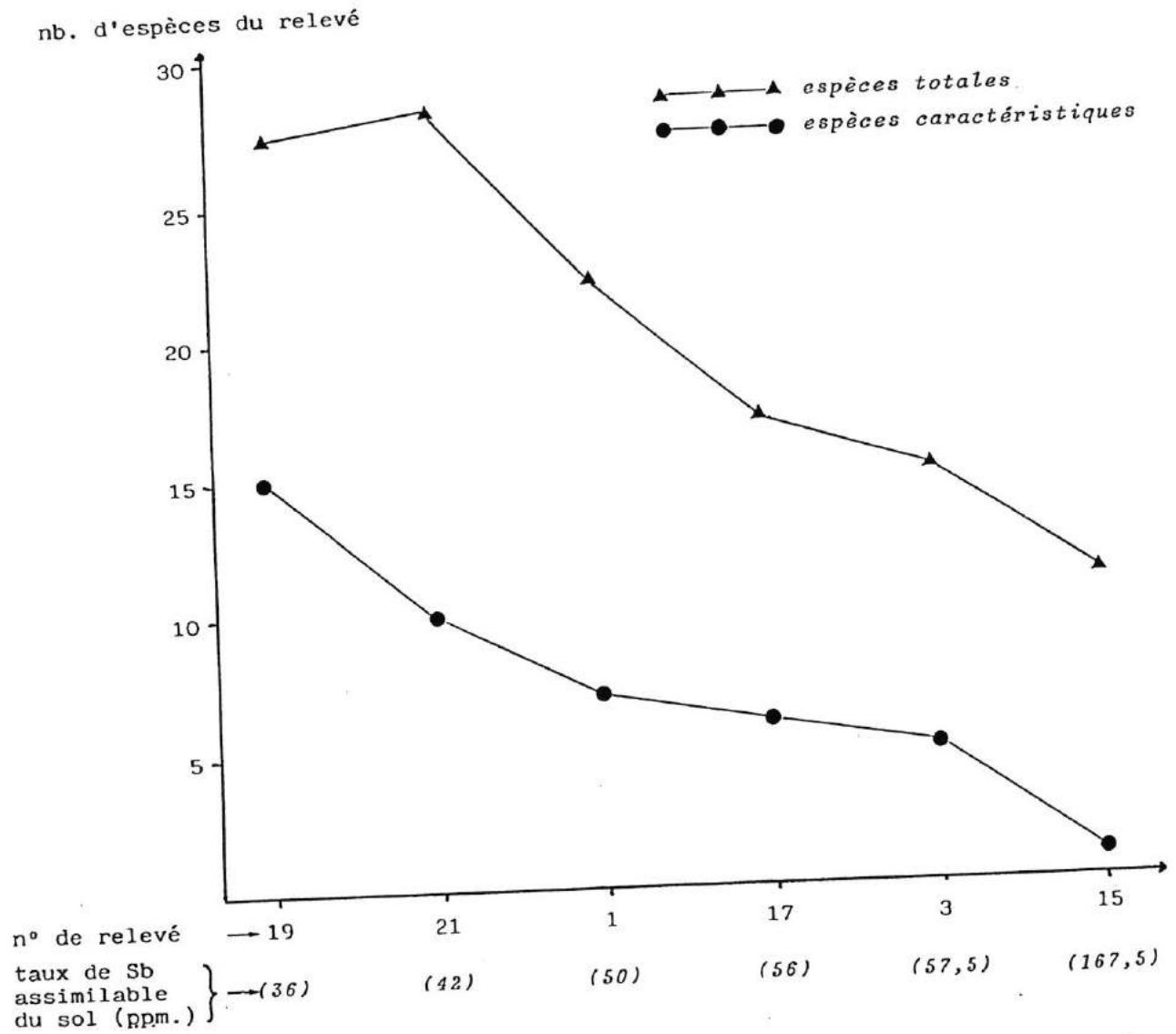


Fig. 5 - Courbe du nombre d'espèces caractéristiques ou du nombre d'espèces totales rapporté au taux d'antimoine assimilable dans les sols des stations du groupe I

Cependant il existe à proximité du groupe II sur les cartes factorielles axes 1-2 et 3-4 (Fig. 3 et 4), le relevé n° 9, effectué sur pente et correspondant à un substrat dont les teneurs en antimoine sont élevées : 60 p.p.m. d'antimoine assimilable et 22650 p.p.m. d'antimoine total. Ce relevé comporte 19 espèces mais on peut remarquer (Tableau III) qu'il contient peu d'espèces caractéristiques. Celles qu'il conserve font aussi partie de la classe des *Thero-Brachypodietea* Br.- Bl. 1947 à laquelle on peut le rattacher sans ambiguïté. Il reste 3 espèces sur 9 pour l'association de l'*Asterico maritimi-Convolutum lineati* Guinochet 1977, 2 espèces sur 12 pour la classe des *Thero-Brachypodietea* Br.- Bl. 1947 et ses syntaxons subordonnés et 4 espèces pour la classe des *Cisto-Rosmarinetea* Rivas-Goday 1964.

Ici aussi, il semblerait qu'un certain nombre d'espèces caractéristiques du groupe II aient été éliminées du relevé 9, c'est-à-dire dès que la concentration du toxique augmente dans le sol.

Pour compléter ces observations, il serait donc intéressant de pouvoir comparer ces quelques relevés sur pentes et glacis à faible teneur en antimoine avec d'autres relevés en situation similaire mais sur des sols à teneur moyenne ou forte en toxique.

1.3.1.3. Le Groupe III

Du point de vue géomorphologique ce groupe de relevés paraît homogène (Fig. 3) : il s'agit de terrasses et de bords d'oueds. Par contre les teneurs en antimoine du sol sont extrêmement différentes d'une station à l'autre : de 4.4 p.p.m. (n° 27), 60 p.p.m. (n° 7) à 157.5 p.p.m. (n° 5) pour l'antimoine assimilable et de 21 p.p.m. (n° 27), 8275 p.p.m. (n° 7) à 56400 p.p.m. (n° 5) pour l'antimoine total.

Les trois relevés de ce groupement cultigène, permettent-ils de vérifier la régression du nombre d'espèces en fonction de la teneur du sol en antimoine ? Etant donné le faible nombre de relevés, la corrélation ressemble davantage à une hypothèse de travail plutôt qu'à une affirmation.

1.3.2. Action de l'antimoine sur les espèces végétales

Nous avons réalisés cette étude à partir du tableau élaboré (Tableau III), sur lequel, dans chacun des groupements phytosociologiques décrits précédemment, nous avons distingué plusieurs catégories d'espèces en fonction de la teneur en toxique des substrats sur lesquels elles croissent.

1.3.2.1. Les espèces résistantes

Ces espèces croissent sur des substrats riches en antimoine (Sb assimilable > 30 p.p.m. et Sb total > 1000 p.p.m.). Vingt trois taxons peuvent être placés dans cette catégorie : vingt sont exclusives, huit du groupe I, douze du groupe II et trois sont présentes, à la fois, dans les deux groupements. Ces espèces ne se retrouvent pas sur milieu normal, elles correspondent aux toxicophytes dans la terminologie utilisée par DUVIGNEAUD et DENAEYER-DE SMET (1960-1973).

Pour ces espèces résistantes on dénombre 18% de Monocotylédones et 82% de Dicotylédones ce qui correspond sensiblement aux proportions de la flore d'Algérie que l'on peut déduire des travaux de QUEZEL et SANTA (1962-1963) pour lesquels on trouve globalement 18.9% pour les premiers et 81.01% pour les seconds.

Dans cette catégorie, la résistance à l'antimoine ne paraît pas procéder d'une forte spécialisation. Par exemple le sparte, *Lygeum spartum* L., l'une des Monocotylédones tolérantes aux plus fortes teneurs en antimoine de la zone d'étude (stations 5, 9 et 15) participe aussi selon BOUKHRIS (1967) et AIDOU-LOUNIS (1984), à des groupements de gypso-halophytes. Cette constatation suggère que, pour cette espèce, les deux modes de résistance puissent découler du même processus physiologique.

1.3.2.2. Les espèces non résistantes

Ces espèces croissent sur des substrats pauvres en antimoine (Sb assimilable < 10 p.p.m. et Sb total < 100 p.p.m.) : elles correspondent aux toxicophobes de la nomenclature de DUVIGNEAUD et DENAEYER-DE SMET (op. cit.). Trente deux taxons appartiennent à cette catégorie : dix neuf espèces sont exclusives du groupe II, sept participent uniquement au groupe III et enfin six sont présentes à la fois dans les groupements II et III.

Les pourcentages dénombrés sur les taxons de cette catégorie montrent qu'il existe une nette diminution des espèces Monocotylédones (15.62%) par rapport aux Dicotylédones (84.37%). Cette différence de comportement entre Monocotylédones et Dicotylédones avait déjà été observée par COTTENIE et al. (1979b) à propos du cadmium, du cuivre et du zinc.

1.3.2.3. Les espèces indifférentes

Ces espèces croissent aussi bien sur des substrats fortement contaminés (Sb assimilable > 30 p.p.m. et Sb total > 1000 p.p.m.) que sur des sols exempts de toxique (Sb assimilable

< 10 p.p.m. et Sb total < 100 p.p.m.). Soixante et un taxons peuvent être classés dans cette catégorie parmi lesquels on note 18.03% de Monocotylédones pour 81.97% de Dicotylédones.

On constate, en outre (Tableau III), que les espèces qui subsistent dans les stations où le toxique est le plus élevé peuvent y être rapportées. Par exemple, la station 15, l'une des plus fortement contaminées de la zone, correspond à un relevé floristique de onze espèces toutes indifférentes, chacune d'elles faisant preuve d'une importante variabilité adaptative.

1.4. CONCLUSION

Il apparaît que les sols de la région minière du Djebel Hamimat peuvent présenter des teneurs en antimoine total extraordinairement élevées (Tableau III), dépassant de très loin les teneurs normales (Tableau I) et même les teneurs d'autres sols pollués par ce toxique (Tableau II).

La présence de fortes concentrations en antimoine dans le substrat entraîne, de même que cela a été observé pour d'autres métaux lourds (BAKER, 1987; DUVIGNEAUD et DENAEYER-DE SMET, 1960; PETERSON, 1983 et WICKLAND, 1989), un appauvrissement floristique de la végétation et plus particulièrement une disparition de certaines espèces caractéristiques.

Il ressort également de cette étude que les espèces végétales ont différents comportements en présence d'antimoine: elles sont toxicophobes, ne se trouvant que sur des sols à faible teneur en antimoine, toxicophytes, se développant beaucoup plus sur des substrats très toxiques et indifférentes, c'est-à-dire présentes aussi bien sur des sols à forte concentration en antimoine que sur des sols à faible concentration.

On constate par ailleurs, que le nombre d'espèces Dicotylédones est plus important parmi les toxicophobes que parmi les toxicophytes, alors que le nombre d'espèces Monocotylédones l'est beaucoup plus parmi les toxicophytes.

2 - ETUDE DU MODE DE TOLERANCE DE QUELQUES ESPECES VEGETALES (RACHED-MOSBAH et al., 1992)

2.1. MATERIEL ET METHODES

Chaque station étudiée a donné lieu à des prélèvements de plantes sur l'emplacement même de relevés floristiques dont

nous avons déjà explicité le choix (cf. chap. II,1.1). Les sols ne sont pas prélevés puisque ayant déjà fait l'objet d'une analyse chimique lors de notre précédente étude.

Pour ce qui est des plantes, plusieurs individus par espèce ont été cueillis au sein de la surface du relevé : seuls ont été analysés les taxons présentant un intérêt à la suite des résultats de notre précédente étude. Pour les plantes herbacées, comme *Dactylis glomerata* L. ou *Convolvulus lineatus* L., toute la partie aérienne a été prélevée, à l'exception des fleurs. En ce qui concerne les plantes un peu plus hautes ou ligneuses, telles qu'*Artemisia herba-alba* Asso ou *Lygeum spartum* L., seules quelques feuilles ou quelques rameaux feuillés, nouvellement produits, ont été récoltés.

Les plantes et leurs extraits sont préparés suivant la technique (annexe 1) décrite par COTTENIE et al. (1979c). L'antimoine a été dosé au spectrophotomètre d'absorption atomique, à une longueur d'onde de 217.6 nm.

2.2. RESULTATS ET DISCUSSION

L'étude phytosociologique, précédemment réalisée dans cette région (cf. chap. II,1.) a permis de distinguer, dans chacun des groupements végétaux décrits, plusieurs catégories d'espèces en fonction des taux d'antimoine contenus dans les sols :

-les espèces "résistantes" ou toxycophytes, croissant sur des substrats riches en antimoine (Sb assimilable > 30 p.p.m. et Sb total > 1000 p.p.m.),

-les espèces "indifférentes" ou facultatives, croissant aussi bien sur les substrats fortement contaminés (Sb assimilable > 30 p.p.m. et Sb total > 1000 p.p.m.) que sur des sols pauvres en toxique (Sb assimilable < 10 p.p.m. et Sb total < 100 p.p.m.),

-les espèces "non résistantes" ou toxicophobes, croissant sur des substrats pauvres en antimoine (Sb assimilable < 10 p.p.m. et Sb total < 100 p.p.m.).

Divers modes de résistance peuvent être retenus (Tableau IV) en fonction d'une part des taux d'antimoine dans les plantes et dans les sols correspondants, d'autre part des résultats de l'étude phytosociologique précédente. Deux cas peuvent se présenter sur la zone que nous avons étudiée : l'exclusion et la tolérance.

Tableau IV - Concentrations de l'antimoine dans les sols, dans les plantes et mode de résistance

Résultats de la phytosociologie	Concentrations du Sb assimilable dans les sols (ppm.)	Concentrations du Sb dans les plantes (ppm.)	Mode de résistance
<u>Résistantes ou toxicophytes</u>			
<i>Limonium ramosissimum</i>	60-157,5	44-66	
<u>Indifférentes ou facultatives</u>			
<i>Hedysarum pallidum</i>	7,1-57,5	tr.-53	accumulation
<i>Plantago coronopus</i>	60-157,5	36-39,5	
<i>Thymus algeriensis</i>	tr.-60	tr.-40	
<i>Artemisia herba-alba</i>	tr.-167,5	tr.-42	
<i>Carduncellus pinnatus</i>	tr.-17,5	14-61	concentration modérée
<i>Centaurea incana ssp. pubescens</i>	tr.-167,5	24-98	
<i>Asperula hirsuta</i>	7,1-167,5	35,2-80,5	
<i>Convolvulus lineatus</i>	4,4-157,5	41-75	
<i>Ampelodesma mauritanica</i>	36-57,5	tr.-17,5	exclusion
<i>Lygeum spartum</i>	tr.-167,5	tr.-17,5	
<i>Stipa parviflora</i>	3,8-167,5	tr.-14	
<i>Dactylis glomerata</i>	tr.-60	tr.	
<u>Toxicophobes</u>			
<i>Stipa tenacissima</i>	tr.-8	tr.	hyperconcentration
<i>Stracylis cancellata</i>	tr.-8	25,5-58,5	

tr. = traces inférieures à 1,25 ppm.

2.2.1. Exclusion

Les espèces entrant dans cette catégorie n'admettent pas, ou très peu, d'antimoine dans leurs tissus aériens.

Chez des espèces indifférentes ou facultatives comme *Ampelodesma mauritanica* (Poiret) Dur. et Schlech., *Lygeum spartum* L., *Stipa parviflora* Desf. ou *Dactylis glomerata* L., les dosages des plantes montrent que leurs parties aériennes contiennent moins de 17.5 p.p.m. d'antimoine alors qu'elles croissent sur des sols variés dont la teneur en antimoine assimilable s'échelonne de quelques traces à 167.5 p.p.m. (seules les teneurs des sols en antimoine assimilable seront considérées dans le reste de la discussion, car elles représentent la fraction du toxique disponible pour les plantes). Ces espèces doivent donc pouvoir croître sur des substrats à forte teneur en antimoine en empêchant l'accumulation de celui-ci dans leurs organes aériens, vraisemblablement par blocage du toxique au niveau des racines.

Chez les espèces non résistantes ou toxicophobes comme *Stipa tenacissima* L., les parties aériennes ne contiennent que des traces d'antimoine même lorsque cette plante croît sur des sols légèrement contaminés, contenant jusqu'à 8 p.p.m. de ce toxique. Cette espèce ne tolérant pas le toxique dans ses cellules semble être rapidement éliminée sur des substrats à forte teneur en antimoine.

2.2.2. Tolérance

Dans ce cas, les parties aériennes des végétaux contiennent des taux relativement élevés d'antimoine. On peut y distinguer deux catégories : les accumulateurs et les concentrateurs.

2.2.2.1. Les accumulateurs

Dans cette catégorie, les plantes arrivent à résister à des teneurs élevées d'antimoine dans les sols, tout en acceptant ce toxique dans leurs tissus, sans pour autant l'accumuler de façon excessive. En effet, les taux en antimoine de leurs parties aériennes sont toujours inférieurs ou égaux à ceux de l'antimoine assimilable contenu dans les sols sur lesquels nous les avons récoltées.

Parmi les toxicophytes, le *Limonium ramosissimum* (Poiret) Maire prélève 44 et 66 p.p.m. d'antimoine dans des sols qui contiennent respectivement 60 et 157.5 p.p.m..

Parmi les indifférentes ou facultatives, *Hedysarum pallidum* Desf., *Thymus algeriensis* B. et R., *Artemisia herba-alba* Asso ou *Plantago coronopus* L. présentent le même comportement, à la différence, cependant, qu'on les rencontre sur des sols dont la teneur en toxique varie de quelques traces jusqu'à 167.5 p.p.m.

2.2.2.2. Les concentrateurs

Ces espèces concentrent dans leurs tissus des taux d'antimoine supérieurs à ceux qui existent dans le sol. On peut cependant y distinguer des concentrateurs modérés et des hyperconcentrateurs.

Les concentrateurs modérés sont des plantes dont la teneur en antimoine des parties aériennes dépasse peu celle des sols. Ce sont essentiellement des indifférentes ou facultatives telles que *Carduncellus pinnatus* (Desf.) DC. qui prélève jusqu'à 61 p.p.m. d'antimoine dans un sol ne contenant que 17.5 p.p.m. d'antimoine assimilable, *Asperula hirsuta* L. qui concentre jusqu'à 80.5 p.p.m. d'antimoine sur un sol contenant 42 p.p.m. d'antimoine assimilable, *Centaurea incana* Desf. ssp *pubescens* (Willd) Maire qui prélève 98 p.p.m. de toxique sur un sol qui n'en contient que 60 p.p.m. et, enfin, *Convolvulus lineatus* L. concentre de 41 à 75 p.p.m. d'antimoine sur des sols contenant de 4.4 à 157.5 p.p.m..

Les hyperconcentrateurs, au contraire, prélèvent des quantités de toxique relativement élevées sur des sols qui en sont presque dépourvus. Ce sont, dans le cas de notre étude, essentiellement des toxicophobes comme par exemple *Atractylis cancellata* L. dont les parties aériennes concentrent de 25 à 58 p.p.m. d'antimoine sur des sols dont la teneur ne dépasse pas quelques traces à 8 p.p.m. de ce toxique.

D'une manière générale, il apparaît que les Monocotylédones excluent le toxique de leurs parties aériennes, alors que les Dicotylédones le tolèrent. COTTENIE et CAMERLYNK (1983) ont déjà signalé cette différence de comportement entre Monocotylédones et Dicotylédones pour divers autres métaux lourds sur des plantes de grande culture. Nous avons confirmé cette observation à propos de l'antimoine (RACHED-MOSBAH et GARDOU, 1988), lors de l'analyse phytosociologique de la végétation naturelle du Djebel Hamimat.

Enfin, l'étude des rapports d'accumulation (Fig. 6), ou rapports de la teneur toxique dans la plante sur celle du même toxique disponible dans le sol, montre que, d'une manière générale, les espèces se comportent d'autant plus en accumulatrices que les teneurs en antimoine dans le sol diminuent. Un tel comportement apparaît nettement chez quelques-unes des plantes que nous avons étudiées lorsque la teneur en antimoine assimilable du sol se situe en dessous de 20 à 40

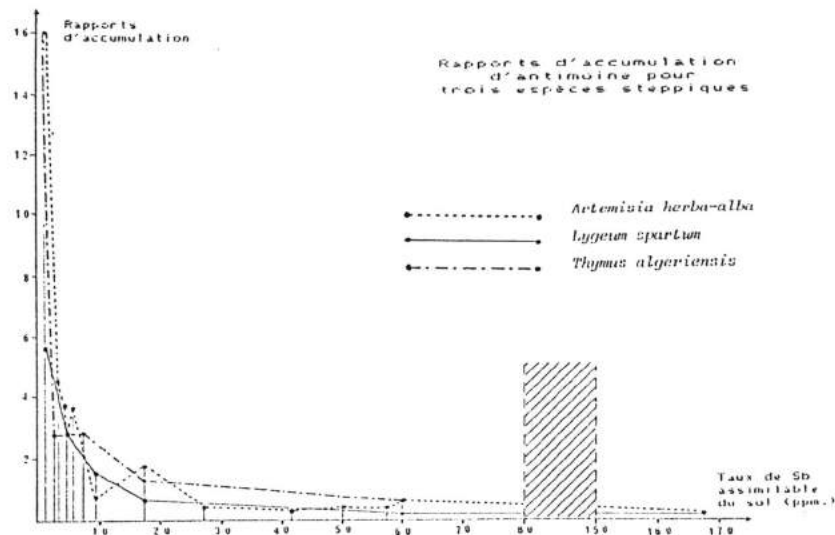
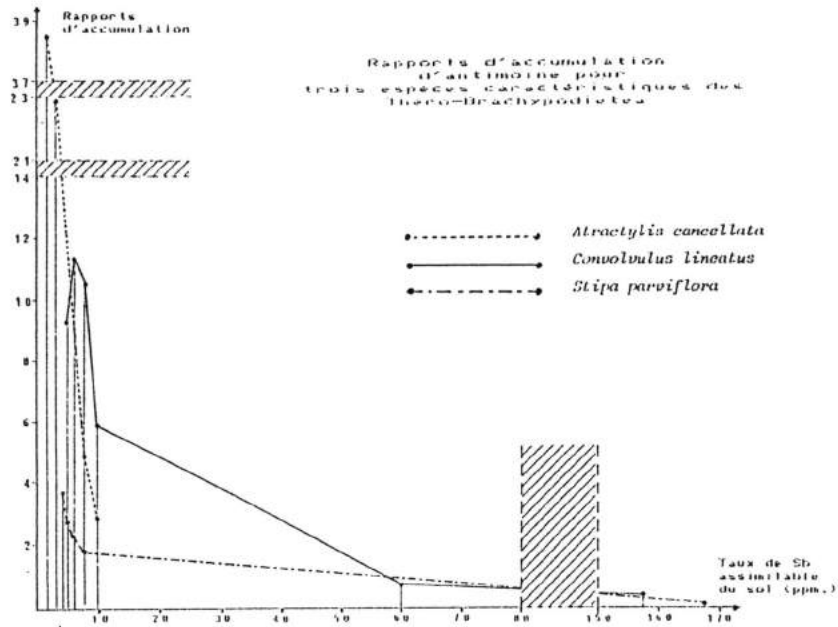
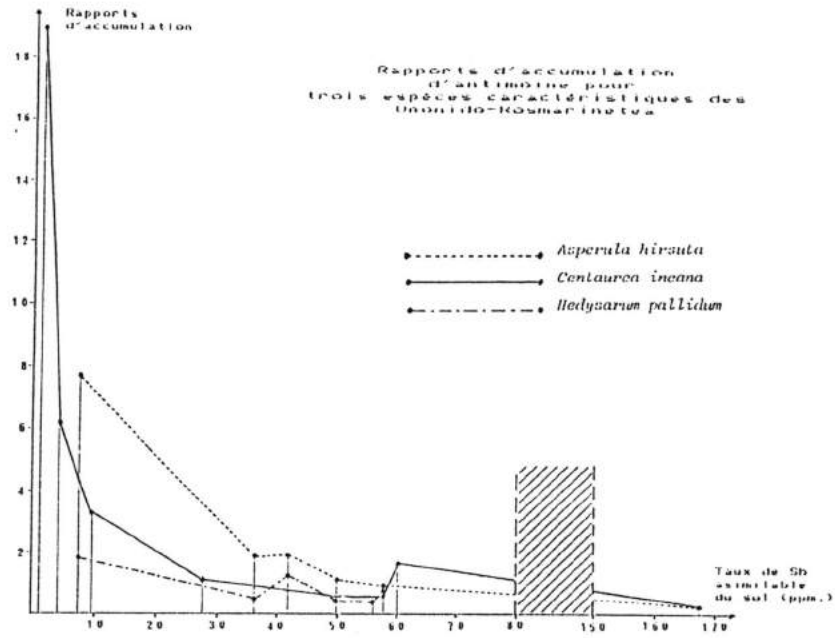


Fig.6 - Rapports d'accumulation d'antimoine de quelques plantes, en fonction des taux d'antimoine du sol

antimoine assimilable du sol se situe en dessous de 20 à 40 p.p.m.. L'examen des courbes d'accumulation montre aussi que lorsque les concentrations en antimoine du sol augmentent, celles des tissus aériens atteignent rapidement un palier. On attribue à un effet barrière le fait que certaines plantes réduisent au maximum l'admission du toxique dans leurs tissus aériens. Les diverses courbes de la figure 6 montrent que ces faits sont observables chez diverses plantes classées comme indifférentes ou facultatives, aussi bien chez celles qui excluent le toxique de leurs parties aériennes comme le sparte (*Lygeum spartum* L.) que chez celles qui l'accumulent comme le sainfoin (*Hedysarum pallidum* Desf.) et même le concentrent comme l'aspérule (*Asperula hirsuta* L.) ou la centaurée (*Centaurea incana* Desf. ssp. *pubescens* (Willd) Maire).

2.3. CONCLUSION

L'antimoine, au même titre que d'autres métaux lourds comme le sélénium (TRELEASE et TRELEASE, 1938), non seulement ne paraît pas toxique pour certaines plantes, mais peut même s'y trouver plus concentré dans leurs parties aériennes que dans le sol d'origine.

Or, dans la région du Djebel Hamimat, les plantes que nous avons étudiées font partie intégrante d'un parcours steppique fréquenté par les ovins. Certaines plantes, résistantes à l'antimoine, accumulatrices ou concentratrices, participent donc activement à la dispersion du toxique sur le site et même à son exportation hors site lorsqu'elles sont fortement appréciées par le bétail ou récoltées par l'homme comme plantes alimentaires ou aromatiques.

CHAPITRE III

* * * * *

ETUDE COMPARATIVE DE DEUX POPULATIONS D'UNE ESPÈCE TOLÉRANTE : *Hedysarum pallidum* Desf.

Comme cela a été vu au chapitre précédent (Chapitre II), *Hedysarum pallidum* Desf. se comporte comme une espèce indifférente se développant aussi bien sur des sols à faible concentration en antimoine que sur ceux qui en ont de très fortes teneurs. Elle est en outre, seule à pouvoir se maintenir sur des déblais de mine.

Ceci nous a amenée à nous demander si cette faculté à coloniser un milieu aussi toxique, n'était pas la conséquence de modifications génétiques qui auraient entraîné la sélection de populations très résistantes isolées génétiquement des populations normales. Pour le savoir nous avons procédé à l'étude comparative, par différentes méthodes, de deux populations de cette espèce se développant sur des milieux qui diffèrent par leurs concentrations en antimoine.

1 - CARACTÉRISATION DE L'ESPÈCE

Très peu de données existent (POTTIER-ALAPETITE, 1979 QUEZEL et SANTA, 1962) sur cette espèce qui est une endémique Nord-africaine (Algérie, Tunisie et Maroc) à l'inverse des autres espèces du même genre qui sont répandues un peu partout dans le monde et qui ont fait l'objet de nombreuses études par divers auteurs (ARCIONI et al., 1985; BAATOUT et al., 1990; BAATOUT et al., 1991a; BAATOUT et al., 1991b; BEALE et al., 1991; CENNI et al., 1968; CHRIKI, 1990; COMBES et al., 1975; FIGIER et al., 1978; SONET et JACOB-REMACLE, 1987; TRIFI-FARAH et al., 1989).

Le genre *Hedysarum* appartient à la famille des Légumineuses et à la sous-famille des Papilionacées. Il se subdivise en deux groupes d'espèces se distinguant par la morphologie, le type de fécondation, le caryotype et les origines géographiques. Le premier groupe comprend les espèces alpines,

arctiques et asiatiques ($2n = 2x = 14$) et le second, les espèces méditerranéennes ($2n = 2x = 16$) (BAATOUT et al., 1991). Selon ces mêmes auteurs, les espèces méditerranéennes du genre *Hedysarum*, ayant déjà fait l'objet d'études, sont toutes fourragères et très appréciées par les moutons.

1.1. LOCALISATION DE L'ESPÈCE

GREUTER et al. (1989) considèrent qu'*Hedysarum pallidum* Desf. (= *Hedysarum atlanticum* Pomel) est spécial à l'Afrique du Nord où il n'est représenté que par un seul taxon avec une répartition assez large en Algérie, Maroc et Tunisie.

En Algérie, on le rencontre dans l'Oranie depuis la côte jusqu'aux confins du Sahara, dans la région de Saïda. Il se développe également dans l'Est algérien, sans pour autant atteindre les côtes et les zones sahariennes (QUEZEL et SANTA, 1962). Selon ces mêmes auteurs on le trouve généralement dans les forêts et les broussailles. D'après KADIK (1987), la présence d'*Hedysarum pallidum* dans une région donnée, indiquerait l'existence d'un substrat marno-calcaire. Enfin, d'après ABDELGUERFI-BERREKIA (1985) cette espèce se rencontre sur des sols riches en calcaire total, à teneur variable en potassium, phosphore et calcium, et renfermant moins de 48 p.p.m. de sodium.

Au Maroc, cette espèce se trouve, selon JAHANDIEZ et MAIRE (1932), essentiellement à l'Est du pays, dans les forêts claires et les pâturages rocaillieux des basses montagnes, à Oujda, Beni-Snassen, Ghar-Rouban et aux monts des Kebbana.

En Tunisie, *Hedysarum pallidum* Desf. se rencontre principalement dans les pâturages rocaillieux des montagnes de la dorsale tunisienne: djebels Mrhila, Kessera et Maktar, Souk-el-Djema et Kalaat-es-Snam, etc. (POTTIER-ALAPETITE, 1979).

1.2. CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES

D'après QUEZEL et SANTA (1962), *Hedysarum pallidum* est une plante vivace, cespiteuse, à longues tiges plus ou moins prostrées. Elle présente des inflorescences en grappes plus ou moins allongées atteignant 10 à 15 cm à la fructification, de grandes fleurs rosées ou blanches lavées de pourpre, parfois blanches et des calices entièrement hispides.

1.3. BIOLOGIE FLORALE

* En préalable à toute étude génétique, il était nécessaire de connaître la biologie florale de cette espèce. Le mode de fécondation d'*Hedysarum pallidum* n'étant pas du tout connu, nous avons donc procédé à la réalisation de tests permettant de le déterminer.

1.3.1. Méthodologie

1.3.1.1. Détermination du mode de fécondation

Les tiges florifères d'une cinquantaine de pieds d'*Hedysarum pallidum* sont ensachées au tout début de l'apparition des premiers boutons floraux (début du mois d'avril 92). Pour cela, une tige par pied est introduite dans un sachet en papier cristal fixé au préalable à un tuteur en bois. Celui-ci permet de maintenir la tige surélevée afin d'empêcher le papier de se dégrader au contact de l'humidité du sol. Le sachet est resserré au bas de la tige moyennant une ficelle de nature végétale (raphia).

Les sachets sont laissés ainsi sur le terrain jusqu'à la fin du mois de juin, période de fructification maximale. Ils sont alors récupérés avec leurs contenus.

Les grains de pollen des fleurs non fécondées sont ensuite soumis au test d'Alexander (ALEXANDER, 1969) pour vérifier que l'inexistence de fécondation n'est pas due à une mauvaise qualité des grains de pollen.

1.3.1.2. Détermination de la qualité des grains de pollen : test d'ALEXANDER (1969)

Les grains de pollen des fleurs non fécondées sont montés entre lame et lamelle, dans une ou deux gouttes du colorant d'Alexander. La lame est ensuite chauffée au-dessus d'une flamme, puis examinée au microscope. Les grains de pollen viables apparaissent colorés en rouge, alors que ceux qui sont avortés sont en verts. On procède alors au comptage des deux types de grain de pollen, moyennant un compteur de cellules "Clay Adams", deux unités, jusqu'à l'obtention d'un total de 500 à 1000 grains. Ce chiffre dépend de la quantité de grains non viables existants : plus leur nombre est élevé, plus le total compté sera élevé. Les grains de pollen d'une dizaine de fleurs par sachet ont été ainsi traités.

1.3.2. Résultats et discussion

Parmi les cinquante sachets que nous avons mis en place, seuls onze sont restés intacts. En effet, la plupart des sachets ont, soit été enlevés à moitié par le vent, soit pourri à la suite d'un contact avec le sol, événement également provoqué par le vent.

Les sachets intacts comportent tous des inflorescences entières et en bon état avec, en moyenne 97.36 fleurs par sachet et un total de 1071 fleurs, sans aucune gousse ou embryon de gousse formés dans l'ensemble des sachets.

Les résultats du test d'Alexander sont donnés dans le tableau V . On constate que sept pied-mères sur onze d'*Hedysarum pallidum* ont 100% des fleurs testées avec plus de 90% de grain de pollen viables. Le pied n°9 présente le plus faible pourcentage de grains de pollen viables (65 à 90%).

Tableau V - Nombre de fleurs par pied-mère en fonction du pourcentage de grains de pollen viables.

Grains de pollen viables (%)	Numéros des pied-mères	Nombre de fleurs
95-100	1	9
	2	6
	3	10
	4	4
	5	4
	6	10
	7	10
	8	7
	10	10
	11	9
	90-95	1
2		3
4		5
5		2
8		3
9		3
11		1
85-90	2	1
	5	4
	9	2
80-85	9	2
65-80	9	3

La figure 7 nous permet de voir également que sur les 110 fleurs traitées, 97 fleurs, c'est-à-dire 88,2% des fleurs, présentent plus de 90% de grains de pollen viables. Par ailleurs, seules 8,2 % des fleurs ont 80 à 90 % de grains de pollen viables et 3,6 % en ont de 65 à 80 %. Ainsi, la qualité du pollen n'est pas à mettre en cause dans l'inexistence de fécondation au niveau des inflorescences ensachées.

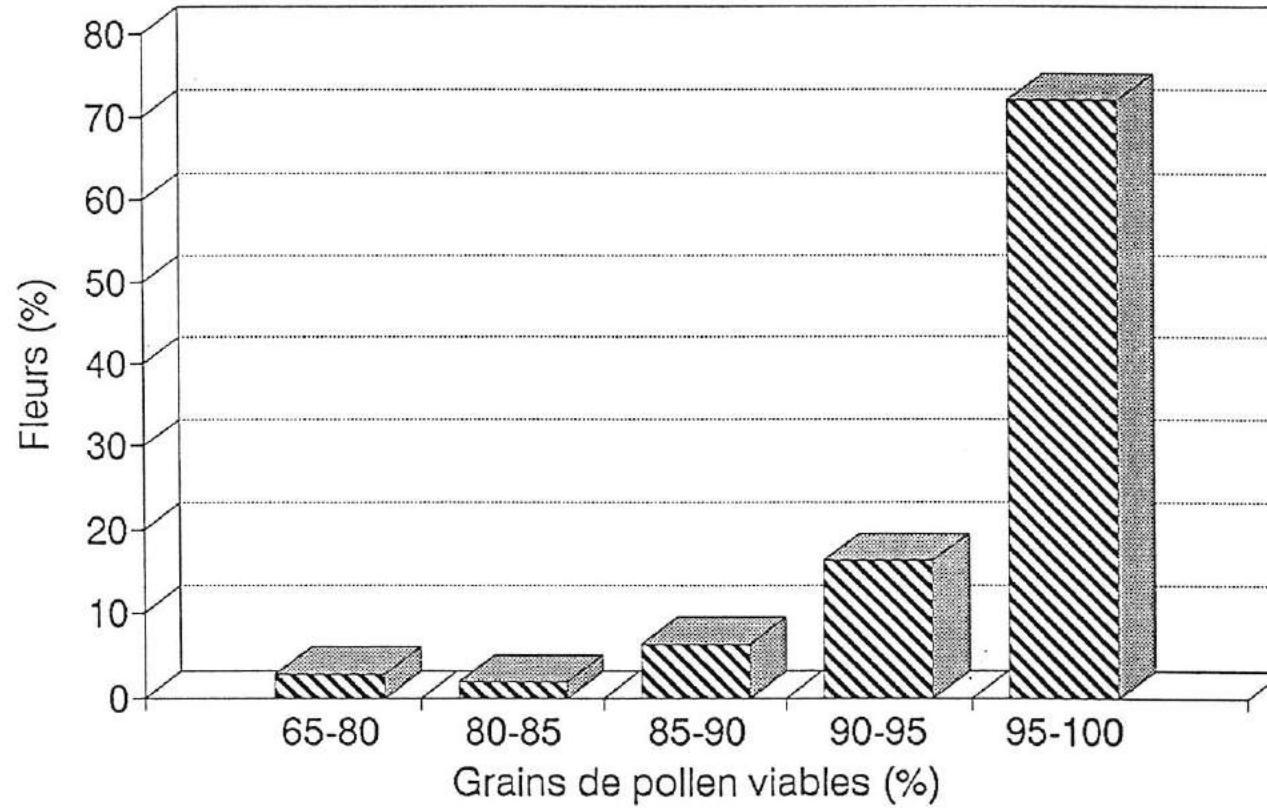


Fig. 7 - Pourcentage de fleurs en fonction du pourcentage de grains de pollen viables (*Hedysarum pallidum* Desf.)

Il ressort de tout ceci que l'allogamie doit être le mode de fécondation le plus fréquent, si ce n'est le seul, pour *Hedysarum pallidum*. En fait un tel mode de fécondation existe déjà pour d'autres espèces du même genre (BAATOUT et al., 1990 et SONET et JACOB-REMACLE, 1987).

1.4. NOMBRES DE CHROMOSOMES

En Algérie, des dénombrements chromosomiques ont été réalisés sur diverses espèces du genre *Hedysarum* L. par ABDELGUERFI-BERREKIA et al. (1986, 1988). Ces auteurs ont étudié vingt neuf populations de huit espèces d'*Hedysarum*. Ils ont observé des nombres diploïdes à $n = 8$ et $2n = 16$ chromosomes pour toutes les populations de sainfoin sauf pour *Hedysarum pallidum* Desf. En effet, pour cette dernière espèce, sur quatre populations étudiées trois sont à $n = 8$ ou $2n = 16$ chromosomes, la quatrième, récoltée au Cap Ivy montre une variabilité chromosomique avec $2n = 16$ ou 18 chromosomes.

Nous avons étudié les chromosomes somatiques des deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. du Djebel Hamimat sur des écrasements d'extrémités de racicules prélevées sur des germinations, prétraitées à la colchicine à 0.005 pendant 2 h 15, fixées au Carnoy (mélange éthanol - chloroforme - acide acétique, 6 - 3 - 1) pendant 24 h, conservées au froid dans l'éthanol à 70° et colorées au Feulgen après une hydrolyse dans l'HCl 1M à 60°C pendant 12 à 14 mn.

Dans les deux populations étudiées au Djebel Hamimat nous avons observé la même variabilité chromosomique que celle déjà rencontrée pour cette espèce au Cap Ivy (op. cit.) avec aussi $2n = 16$ ou 18 chromosomes en métaphase. Les deux sortes de comptages sont présents dans les mêmes individus, ce qui laisse supposer la présence de mosaïques chromosomiques dans les méristèmes racinaires de cette espèce.

2 - TESTS DE CROISSANCE EN MILIEU CONTROLÉ

2.1. MÉTHODOLOGIE

2.1.1. Matériel utilisé

Les tests expérimentaux ont été réalisés sur des graines de deux populations d'*Hedysarum pallidum* : une population

très tolérante, se développant sur déblais de mine, très riches en antimoine total (23640 p.p.m.) et une population témoin ou normale, croissant à 5 mètres de la précédente sur un sol relativement pauvre en antimoine total (35 p.p.m.).

2.1.2. Méthode d'expérimentation

Après plusieurs essais avec différentes méthodes de cultures classiques, s'étant toutes soldées par un échec et la mort des individus, nous avons opté pour la culture *in vitro* sur milieu gélosé. Celle-ci s'est avérée, après un premier essai, être la seule technique permettant un bon développement d'*Hedysarum pallidum* et son maintien pendant plusieurs semaines. Par ailleurs, cette technique permet de faire pousser un grand nombre d'individus à la fois, dans des conditions identiques et sans aucune des contraintes des cultures classiques telles que les pesées quotidiennes pour la compensation en eau perdue par évapotranspiration.

2.1.2.1. Milieus utilisés

L'espèce *Hedysarum pallidum* n'a jamais fait à notre connaissance l'objet de cultures *in vitro*, à l'inverse d'*Hedysarum coronarium* L., pour laquelle des régénérations ont même été obtenues (ARCIONI et al., 1985 et LAKHOVA, 1983). Aussi, afin de déterminer le milieu de culture approprié à l'espèce que nous étudions, nous avons d'abord procédé à un premier essai sur un milieu de clonage (cf. milieu 1, annexe 2), mis au point par l'équipe du Laboratoire d'Ecotechnologie de l'Université Paris XI, à Chatenay-Malabry, pour *Atriplex halimus*, une espèce des zones arides.

Un deuxième essai a été entrepris ensuite sur deux milieux différents : un milieu n°2 découlant du précédent et un milieu n°3 comportant les macroéléments et microéléments de M.S. (MURASHIGE et SKOOG, 1962), (annexe 2).

Pour étudier l'action de l'antimoine sur *Hedysarum pallidum*, nous avons ajouté, au milieu de culture choisi après les essais préliminaires, des quantités croissantes d'antimoine (0, 5, 10, 20, et 40 p.p.m.) sous forme de tartrate d'antimoine, soit : 0, 13.7, 27.4, 54.8, et 109.7 mg/l de $K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 1/2 H_2O$. Ce composé est utilisé en raison de sa grande solubilité, à l'inverse des autres dérivés de l'antimoine, qui ont tendance à précipiter.

2.1.2.2. Préparation des milieux

Les milieux sont préparés en mélangeant à froid tous les constituants minéraux, les vitamines et le saccharose

nécessaire. Le mélange est versé sur la gélose contenue dans un erlenmeyer. Le pH est alors réajusté entre 5.76 et 5.84 avec du KOH N/10 ou du HCl, goutte à goutte. Les milieux ainsi préparés sont chauffés au bain-marie jusqu'à dissolution de la gélose, avant d'être répartis dans des tubes à essai en verre, à raison de 14 ml par tube, puis stérilisés à l'autoclave pendant 20mn.

2.1.2.3. Préparation des graines et mesures effectuées

Les graines sont d'abord légèrement scarifiées puis stérilisées avec une solution de Domestos à 25% pendant 30 minutes. Elles sont ensuite mises à germer dans des conditions stériles, en boîte de pétri pendant trois jours. A la suite de cela, les graines ayant le mieux germé sont triées puis repiquées, en conditions stériles, dans des tubes à essai, à raison d'une plantule par tube, sur les différents milieux. Les tubes sont placés alors dans une chambre de culture, à 25° C constants, éclairée en lumière fluorescente à 25 $\mu\text{E}/\text{sec.}/\text{m}^2$ (lampe Mazdafluor Blanc Industrie) et avec une photopériode de 12 heures.

En raison de la faible quantité de graines que nous avons à notre disposition les tests préliminaires ont été réalisés avec un nombre de semences réduit : une dizaine de graines pour le premier essai et 24 graines pour le deuxième. Les mesures des parties aériennes sont prises, avec un double décimètre à travers le tube à essais, après 3 semaines de culture; le nombre de feuilles est également noté.

En ce qui concerne le test de tolérance à l'antimoine, 35 graines par concentration et par population ont été ensemencées. La racine est mesurée, de la même façon que précédemment, le jour du repiquage (temps t0), après une semaine de mise en culture (temps t1), après deux semaines (temps t2) et après huit semaines (temps t4). La hauteur de la partie aérienne et le nombre des feuilles ne sont mesurées qu'après une semaine de mise en culture (temps t1), après deux semaines (temps t2), après trois semaines (temps t3) et après huit semaines (temps t4). Au stade ultime, le nombre de ramifications des racines, celui des parties aériennes et le nombre de feuilles étiolées sont notées en plus des mesures précédentes, avant de procéder au séchage des parties aériennes, pied par pied, dans une étuve à 80°C pendant 48 heures. On effectue ensuite la pesée de chaque individu séparément. Les parties aériennes sont ensuite regroupées par concentration et par population pour la détermination de leurs teneurs en antimoine.

2.1.3. Méthode d'analyse de l'antimoine

Le dosage de l'antimoine a été effectué par activation neutronique. Cette technique, très sensible, permet d'éviter la

perte d'une certaine quantité des éléments volatils, tels que l'antimoine, survenant toujours, dans le cas des autres méthodes, au moment de la transformation en cendres.

Les échantillons sont d'abord minutieusement séchés puis bien mélangés. Ils sont ensuite fortement pressés sous forme de briquettes pesant 8 g et faisant 40 mm de diamètre et 6 mm d'épaisseur. Les briquettes sont alors empilées en lot de 40 et emballées dans du polyéthylène avant d'être transférées au réacteur. L'irradiation est accomplie en plaçant le paquet de briquettes dans un cylindre d'irradiation qui est abaissé ensuite dans un emplacement préselectionné, au centre du réacteur. Après 1 heure d'exposition, les échantillons sont sortis du réacteur et mis dans un réservoir pendant 8 à 9 jours, pour permettre aux radiations indésirables de se dégrader. Après cette période, les échantillons sont analysés pour les éléments requis. L'appareil utilisé alors est un analyseur à multicanaux couplé à un détecteur (pacified hyperpure germanium detector).

2.1.4. Méthode d'étude histologique

Les cotylédons des individus ou des objets présentant un intérêt (cf chapitre IV, 2.2.2.1.) sont fixés à l'alcool acétique puis inclus dans la paraffine selon la technique décrite par LANGERON, 1942. Des coupes à 7 μ sont ensuite réalisées au microtome, puis après déparaffinage (LANGERON, 1942), colorées au bleu d'alcian et à l'éosine.

2.1.5. Méthodes de traitement des données

L'analyse de la variance multivariée a été utilisée pour l'analyse statistique de nos données par traitement informatique.

Différents graphiques sont également réalisés permettant de mieux visualiser les mesures effectuées et donc de les commenter aisément.

Par ailleurs, des indices sont utilisés pour exprimer l'effet de l'antimoine sur *Hedysarum pallidum*. Il s'agit de :

a) L'indice de toxicité (Ti) (COTTENIE et al., 1979b):

$$Ti = \frac{\text{croissance en milieu enrichi}}{\text{croissance en milieu normal}}$$

Si $Ti = 1$, on parle d'un effet phytotoxique nul. Quand Ti est supérieur à 1, on parle d'un effet bénéfique ou favorable. Quand Ti est inférieur à 1, on dit qu'il y a effet phytotoxique.

b) L'indice de tolérance (TI) (WILKINS, 1957)

$$TI = \frac{\text{Allongement moyen des plus longues racines en milieu toxique}}{\text{Allongement moyen des plus longues racines en milieu non toxique}}$$

L'allongement moyen est calculé en soustrayant la longueur moyenne de la racine au temps t_0 à la longueur moyenne au temps t_4 . D'autre part, plus l'indice de tolérance est élevé plus la tolérance de la plante est importante.

c) Le rapport d'accumulation (RA) (COTTENIE et al., 1979b)

$$RA = \frac{\text{Concentration de l'élément dans la plante}}{\text{Concentration de l'élément dans le sol}}$$

Ce rapport est d'autant plus élevé que la plante accumule l'élément en question.

2.2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

2.2.1. Essais préliminaires

Lors du premier essai avec le milieu n°1 (annexe 2), les plantes ont présenté assez rapidement, en moins de trois semaines de mise en culture, des signes de dépérissement: dessèchement des feuilles ou même de la partie aérienne. Ceci nous a amené à faire le deuxième essai sur les milieux 2 et 3 (annexe 2). Les mesures effectuées lors de ce deuxième essai sont portées dans le tableau VI. L'étude des moyennes de ces mesures permet de constater que les deux populations présentent un meilleur développement sur le milieu 3 que sur le milieu 2. Par ailleurs, des signes de dépérissement sont également apparus dans les deux populations, après trois semaines de mise en culture, sur le milieu 2.

Tableau VI - Essais préliminaires : hauteur de la partie aérienne (en cm) et nombre de feuilles après trois semaines de mise en culture.

n° Indi vidu	Milieu 2				Milieu 3			
	Hauteur partie aérienne		Nombre de feuilles		Hauteur partie aérienne		Nombre de feuilles	
	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2
1	1.5	0.0	3	0.0	3.8	1.7	3	2
2	2	0.5	3	1	0.0	0.0	0.0	0.0
3	2.4	3	3	2	1.7	4.8	1	3
4	2.7	1.5	2	2	5.2	2.7	4	3
5	3	4	2	3	3.9	1.2	3	1
6	3.8	2.8	2	3	3	0.0	3	0.0
7	2	4	3	3	5.3	0.0	3	0.0
8	0.0	3	1	3	1	2	1	2
9	3	1.5	3	3	1.3	1.8	1	3
10	2.5	3	3	3	2	1.1	2	1
11	1.5	0.5	2	1	3.8	2.7	3	2
12	2.8	0.0	3	0.0	0.0	1.2	0.0	3
13	0.5	2.3	1	3	2.4	4.5	3	3
14	0.5	0.0	1	0.0	2.4	4	3	3
15	3.3	0.0	4	0.0	3	0.6	3	1
16	0.0	3	0.0	2	2	1	3	1
17	0.0	2.5	0.0	3	2	1	1	2
18	0.5	3.4	1	3	3.2	2.9	2	3
19	3	2.5	3	3	2.3	5	2	3
20	3	3	3	3	4.8	4.8	4	4
21	0.5	1	1	3	1.9	2.2	2	2
22	1.2	1	1	3	2.7	3.5	2	4
23	0.0	0.0	0.0	0.0	3.4	5.3	2	3
24	0.0	0.8	0.0	1	2	7.5	2	4
Moy.	1.57	1.8	1.87	2.12	2.63	2.18	2.2	2.2

P1 = population des déblais de mine

P2 = population témoin

La comparaison de la composition chimique des trois milieux (annexe 2) montre que les milieux 1 et 2 contiennent du sodium alors que le milieu 3 n'en contient pas. Ce dernier est beaucoup plus riche en éléments majeurs (N, P, K, Mg) que les deux autres milieux, ce qui expliquerait le meilleur développement obtenu avec celui-ci. Il semblerait par contre que la présence de sodium, plus particulièrement en milieu acide, comme c'est le cas des milieux de culture, ne convienne pas à *Hedysarum pallidum*.

Ces résultats nous ont amené à choisir le milieu n°3 pour les tests de croissance en présence d'antimoine (cf. chapitre IV, 2.1.2.1.)

2.2.2. Etude morphologique, histologique et chromosomique des cultures expérimentales *in vitro*

2.2.2.1. Description morphologique

Après huit semaines de croissance, l'observation des plantes, dont quelques photos ont été prises, et l'étude des mesures (annexes 3, 4, 5 et 6) permettent de faire les constatations suivantes :

1°) Les racines de certains individus ne se sont pas du tout ou très peu développées depuis le début de l'expérimentation (moins de 2.5 cm) et pourtant, leurs parties aériennes continuent à se développer ou après une mort apparente, se remettent à croître. Ainsi, on distingue trois cas différents:

a) certains individus après une mort apparente dès le début de la mise en culture, cotylédons et radicelles devenus brunâtres, présentent, au bout de 6 à 7 semaines, des néoformations de bourgeons adventifs et de jeunes pousses plus ou moins nombreux à la partie supérieure des cotylédons (planche 1). C'est le cas de :

-pour la population des déblais de mine :

- à 0 p.p.m. : n°3-4 (planche 1B)
- à 10 p.p.m. : n°3-6 (planche 1F)
- à 20 p.p.m. : n°3-8
- à 40 p.p.m. : n°5-4 et 5-6 (planche 1A)

-pour la population témoin :

- à 0 p.p.m. : n°13-1 (planche 1E)
- à 5 p.p.m. : n°13-2 et 14-4 (planche 1C)

b) Quelques plantes, après avoir commencé à se développer se dessèchent de façon plus ou moins prononcée, puis de nouvelles pousses et des bourgeons adventifs néoformés

PLANCHE 1

Aspect de divers individus d'*Hedysarum pallidum* Desf. après huit semaines de culture *in vitro* sur milieu gélosé (milieu 3, annexe 2) plus ou moins enrichi en antimoine.

A - Population des déblais de mine (concentration en antimoine du milieu de culture : 40 p.p.m.).

B - Population des déblais de mine (milieu de culture sans antimoine ajouté).

C - Population témoin (concentration en antimoine du milieu de culture : 5 p.p.m.).

D - Population témoin (concentration en antimoine du milieu de culture : 10 p.p.m.).

E - Population témoin (milieu de culture sans antimoine ajouté).

F - Population des déblais de mine (concentration en antimoine du milieu de culture : 10 p.p.m.).

G - Population des déblais de mine (concentration en antimoine du milieu de culture : 20 p.p.m.).

H - Population des déblais de mine (concentration en antimoine du milieu de culture : 40 p.p.m.).

I - Population témoin (concentration en antimoine du milieu de culture : 10 p.p.m.).



apparaissent sur l'hypocotyle et pour certains, sur la racine elle-même (planches 1 et 2), c'est le cas de :

- pour la population des déblais de mine :
 - à 20 p.p.m. : n°4-5 et 5-4 (planche 1G)
 - à 40 p.p.m. : n°4-9 (planche 2B)
- pour la population témoin :
 - à 0 p.p.m. : n°14-4
 - à 5 p.p.m. : n°8-3 et 6-3
 - à 20 p.p.m. : n°11-2 et 9-2
 - à 40 p.p.m. : n°9-1 (planche 1D)

c) La partie aérienne de certains individus croît normalement malgré l'arrêt de croissance de la racine. Après quelques semaines, il y a néoformation de bourgeons adventifs et de pousses sur le collet mais aussi sur la racine pour quelques-uns. Il s'agit de :

- pour la population des déblais de mine :
 - à 0 p.p.m. : n°3-3
 - à 10 p.p.m. : n°5-1
 - à 20 p.p.m. : n°5-1, 3-5, 4-6, 5-6 et 4-9
- pour la population témoin :
 - à 5 p.p.m. : n°11-4 (planche 2A)
 - à 10 p.p.m. : n°14-3, 15-2, 12-3, 9-1
 - à 20 p.p.m. : n°7-3, 14-4, 11-1, 11-4
(planche 2c)

2°) Certaines plantes, malgré un développement des racines (3.5 à 10 cm de longueur), se dessèchent plus ou moins complètement, puis redémarrent avec des néoformations de bourgeons adventifs et de jeunes pousses sur le collet (planche 1). C'est le cas de :

- pour la population des déblais de mine :
 - à 20 p.p.m. : n°4-7, 4-3 et 1-2
 - à 40 p.p.m. : n°2-4 et 3-6 (planche 1H)
- pour la population témoin :
 - à 0 p.p.m. : n°6-2 et 15-1
 - à 5 p.p.m. : n°6-2 et 15-2
 - à 10 p.p.m. : n°6-4, 7-3 et 15-4
(planche 1I)
 - à 20 p.p.m. : n°7-1, 11-3 et 15-1
 - à 40 p.p.m. : n°6-4

3°) Certains individus en bon état, dont les racines et les parties aériennes sont assez bien développées, présentent des néoformations de bourgeons adventifs et de jeunes pousses localisés uniquement sur la racine (planche 2). Il s'agit de :

- pour la population des déblais de mine :

PLANCHE 2

Aspect de divers individus d'*Hedysarum pallidum* Desf. après huit semaines de culture *in vitro* sur milieu gélosé (milieu 3, annexe 2) plus ou moins enrichi en antimoine.

A - Population témoin (concentration en antimoine du milieu de culture : 5 p.p.m.).

B - Population des déblais de mine (concentration en antimoine du milieu de culture : 20 p.p.m.).

C - Population témoin (concentration en antimoine du milieu de culture : 20 p.p.m.).

D - Population témoin (milieu de culture sans antimoine ajouté).

E - Population témoin (concentration en antimoine du milieu de culture : 20 p.p.m.).

F - Population témoin (concentration en antimoine du milieu de culture : 20 p.p.m.).

PLANCHE 2



à 0 p.p.m. : n°5-6, 2-1, 2-2, 3-5 et
4-4
à 5 p.p.m. : n°3-4, 5-3, 4-3 et 1-3
à 10 p.p.m. : n°1-4
à 40 p.p.m. : n°2-3

-pour la population témoin :

à 0 p.p.m. : n°14-3, 10-1, 6-2 et 14-1
(planche 2D)
à 5 p.p.m. : n°8-4, 7-2 et 6-4
à 10 p.p.m. : n°7-3 et 12-3
à 20 p.p.m. : n°10-1 et 12-3
(planche 2E et 2F)

Ainsi, après la mise en culture et le dépérissement apparent de certains individus, des néoformations de bourgeons adventifs et de jeunes pousses apparaissent aussi bien dans la population témoin (planche 1.C) que dans la population des déblais de mine (planche 1.A). Ces néoformations apparaissent dans toutes les cultures, aussi bien sans antimoine (planche 1.B et 1.E), qu'avec 5 p.p.m. de Sb (planche 1.C), 10 p.p.m. (planche 1.F) et jusqu'à 40 p.p.m. (planche 1.A et 1.D).

2.2.2.2. Etude histologique des cotylédons et des rejets

Des coupes histologiques pratiquées sur les cotylédons présentant des bourgeons adventifs montrent de nombreuses zones de dédifférenciations cellulaires avec un rapport nucléocytoplasmique élevé et une activité mitotique intense.

Certaines de ces zones (planche 3.A) rappellent des différenciations de faisceaux cribro-vasculaires accompagnées de cellules méristématiques tels que ceux qui sont observés par MOREL et GAUTHERET (1955) dans des cultures de tissu d'*Amorphophallus rivieri*.

D'autres zones de dédifférenciation cellulaire (planches 3.B et 3.D) se rapprochent de celles qui sont décrites par GAUTHERET (1959) dans des cultures de tissu de carottes et qui correspondent à une prolifération de cellules méristématiques au sein desquelles se sont différenciées des trachéides et des massifs criblés.

A certains endroits (planche 3.C), une telle prolifération de cellules méristématiques s'organise en amas, présentant à la base un massif cribro-vasculaire dont elle semble provenir.

D'autre part, plusieurs préparations mettent en

PLANCHE 3

Différentes sortes de néoformations dans un cotylédon d'*Hedysarum pallidum* Desf. cultivé sur milieu gélosé (milieu 3, annexe 2) enrichi en antimoine (20 p.p.m. de Sb). Coupes à 7 μ , après fixations à l'alcool acétique (3/1) et inclusion à la parafine, colorées au bleu d'Alcyan.

A - Recloisonnements cellulaires et début de différenciation de vaisseaux cribro-vasculaires (Vx).

B et D - Néoformation de tissus conducteurs (Vx) au sein de cellules méristématiques en prolifération (Csm) : de nombreux bourgeons se forment à partir de cette zone.

C - Prolifération de cellules méristématiques néoformées en amas (Csm) à proximité d'un massif cribro-vasculaire (Vx).

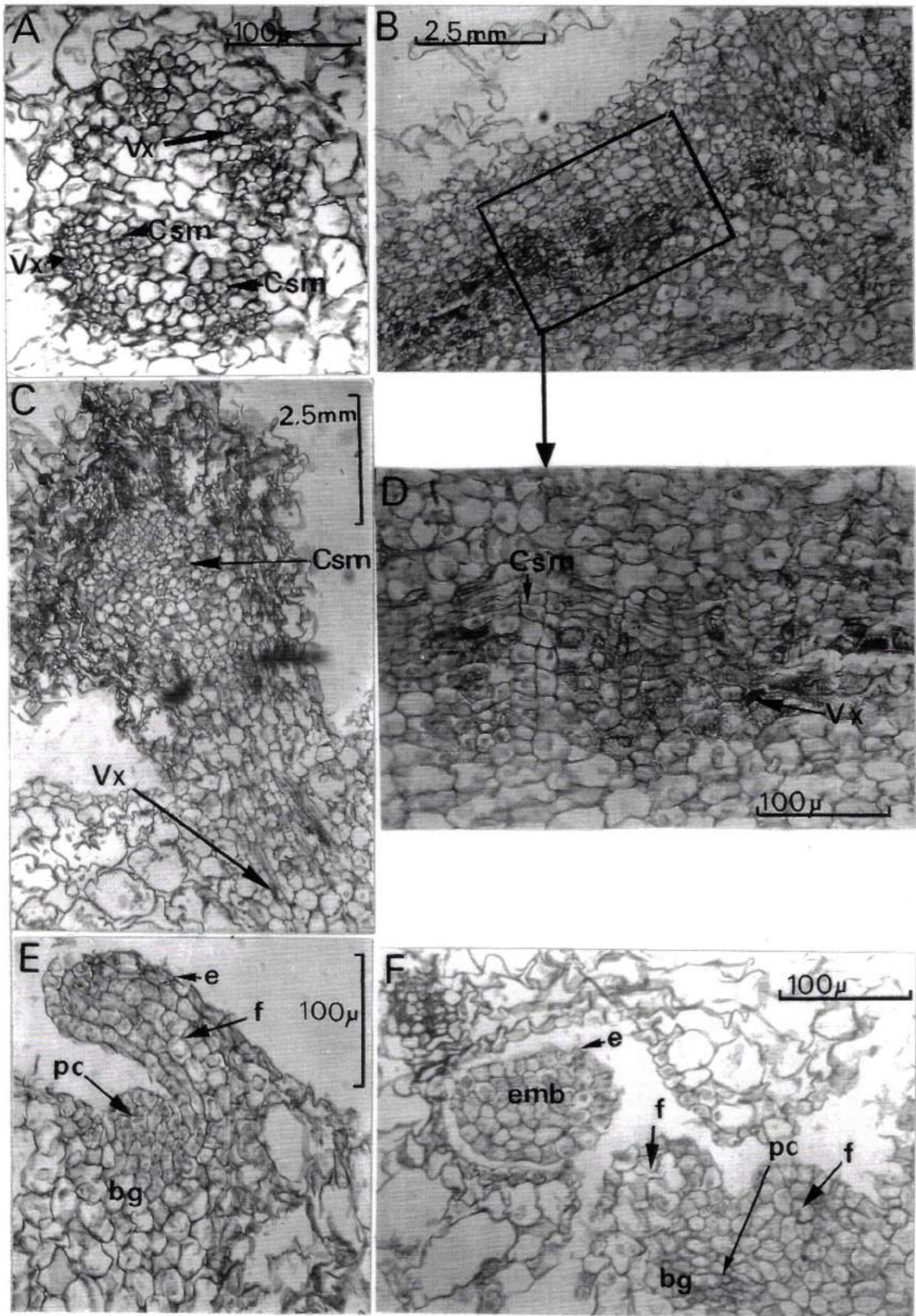
E - Néoformation d'un bourgeon adventif montrant l'apparition d'un point végétatif caulinaire (pc) et d'une première feuille (f).

F - Néoformation d'un bourgeon adventif (bg) à partir des proliférations issues de la zone génératrice montrant le point végétatif caulinaire (pc) et les deux premières feuilles (f).

Amas de cellules méristématiques (cms) entourées par un épiderme (e) bien individualisé, pouvant éventuellement évoluer en embryon somatique globulaire.

(bg, bourgeon néoformé; Csm, cellules méristématiques; e, épiderme; emb, jeune embryon somatique globulaire; f, première feuille; pc, point végétatif caulinaire; Vx, vaisseaux conducteurs néoformés).

PLANCHE 3



évidence de petits massifs méristématiques (planches 3.E et 3.F) identiques aux bourgeons néoformés observés par STERLING (1951) dans des cultures de fragments de tiges de tabac et par BALL (1950) dans des cultures de tissu de Sequoia. Il est possible de reconnaître sur ces bourgeons le point végétatif caulinaire et la présence de une à deux premières feuilles.

Sur ces préparations on voit apparaître également des amas de cellules méristématiques délimitées par un épiderme bien individualisé (planches 3.F et 4.A), faisant penser à des embryons somatiques au stade globulaire tels que ceux qui sont représentés par HARINI et LAKSHMI SITA (1993), KOMAMINE et al. (1990), LU et VASIL (1985) et MICHAUX-FERRIERE et al. (1987).

Certaines coupes font apparaître des structures en forme de coeur (planche 4.B) rappelant les embryons somatiques au stade cordiforme observés par AID (1991), HARINI et LAKSHMI SITA (1993), KOMAMINE et al. (1990) et LU et VASIL (1985).

D'autres préparations mettent en évidence des formations faisant penser à des embryons somatiques au stade jeune torpille (planches 4.C et 4.D) et au stade cotylédonaire (planches 4.E, 4.F, 4.G et 4.H), montrant très nettement les cotylédons (planche 4.E), le suspenseur (planche 4.E et 4.H) et le point végétatif radicaire (planches 4.D, 4.E, 4.F, 4.G et 4.H). Ces formations se rapprochent de celles qui sont décrites dans l'embryogénèse normale par CUTTER (1971)

Toutes ces observations laissent penser qu'il s'agit réellement de néoformations et même d'embryons somatiques. Cependant seules d'autres expérimentations telles que par exemple, la mise en culture des bourgeons adventifs en question, permettraient de s'en assurer. Mais, il semble tout de même que le stress ait entraîné une désorganisation du cotylédon puis la naissance de fonctions nouvelles telles que la genèse de jeunes tissus.

2.2.2.3. Répartition des néoformations dans les cultures expérimentales

Les pourcentages d'individus présentant des néoformations sur les cotylédons, le collet et/ou l'hypocotyle, calculés à partir des données précédentes et pour chaque concentration en antimoine, sont portés dans le tableau VII. Ces pourcentages sont calculés en ne prenant en considération que les individus vivants.

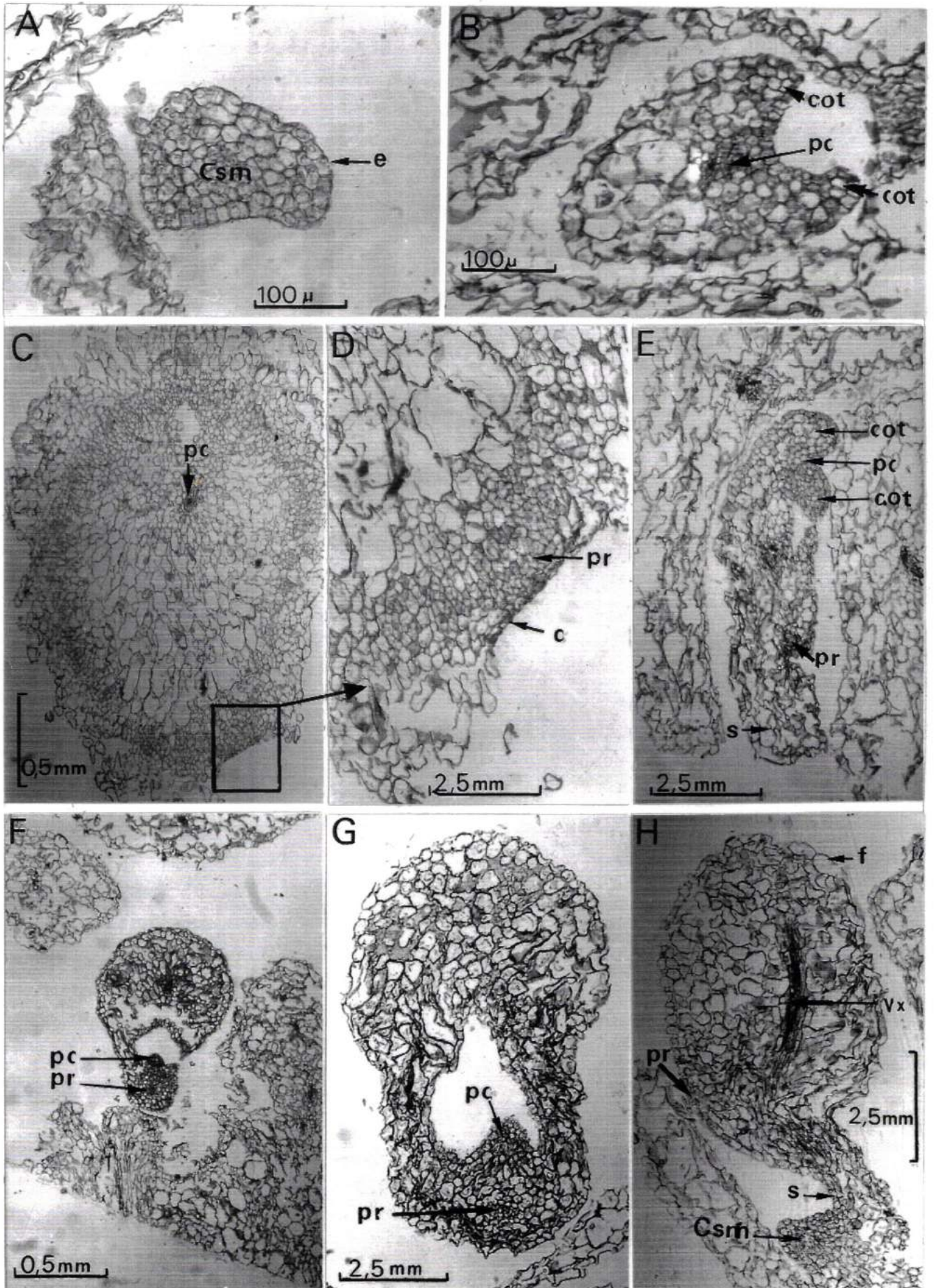
PLANCHE 4

Embryons somatiques à différents stades de développement observés sur des sections transversales de cotylédons provenant de germinations d'*Hedysarum pallidum* Desf. cultivées sur milieu gélosé (milieu 3, annexe 2) enrichi en antimoine (5 p.p.m. de Sb pour C et D et 20 p.p.m. de Sb pour A, B, E, F, G et H). Les semences ont pour origine la zone polluée (population 1 pour C et D) et non polluée (population 2 pour A, B, E, G et H).

- A - Jeune embryon somatique, stade globulaire.
- B - Jeune embryon somatique, stade cordiforme.
- C - Jeune embryon somatique, stade jeune torpille.
- D - Jeune embryon somatique, stade jeune torpille, détail du pôle racinaire.
- E - Jeune embryon somatique, stade cotylédonnaire.
- F - Jeune embryon somatique.
- G - Jeune embryon somatique.
- H - Jeune embryon somatique montrant la présence d'un suspenseur (s).

(c, coiffe; cot, cotylédons; Csm, cellules méristématiques; f, première feuille; pc, point végétatif caulinaire; pr, point végétatif radicaire; s, suspenseur; Vx, vaisseaux conducteurs).

PLANCHE 4



L'étude du tableau VII permet de faire les constatations suivantes :

- la population des déblais de mine présente, quelle que soit la concentration en antimoine, moins d'individus comportant des néoformations que la population témoin;

- les individus présentant des néoformations dans la population des déblais de mine, ne sont relativement nombreux qu'à partir de 20 p.p.m. d'antimoine dans le milieu, alors que dans la population témoin ils le sont déjà lorsque la concentration en antimoine n'est que de 5 p.p.m.;

- pour les deux populations, le pourcentage d'individus comportant des néoformations diminue sensiblement lorsque la concentration en antimoine est de 40 p.p.m., tout en restant plus élevé dans la population témoin;

- les néoformations apparaissent également sur quelques individus des deux populations, se trouvant sur le milieu sans antimoine.

Tableau VII - Pourcentage d'individus présentant des néoformations sur les cotylédons, le collet et/ou l'hypocotyle

Concentration en antimoine (p.p.m.)	Population des déblais de mine	Population témoin
0	6.25	14.8
5	0	38.88
10	6.66	36.84
20	40.7	42.8
40	14.28	22.22

Ainsi, ces potentialités de néoformations existeraient probablement déjà chez *Hedysarum pallidum* dans la nature. Cependant, aucune de nos investigations sur le terrain ne nous a permis de le mettre en évidence. Ceci laisserait penser que ces potentialités seraient vraisemblablement révélées par la mise en culture *in vitro*. Les conditions de culture *in vitro* en étant différentes des conditions naturelles, entraîneraient probablement un léger stress pour les jeunes plantules, amplifié alors par la présence d'antimoine. La population témoin étant moins adaptée à la présence d'antimoine, serait donc plus stressée que la population des déblais de mine et réagirait en produisant beaucoup plus de néoformations.

L'étude du pourcentage d'individus présentant des néoformations sur les racines (tableau VIIIa) montre, pour les deux populations, que ce pourcentage diminue lorsque la concentration du milieu en antimoine augmente. Il est

pratiquement négligeable dès la concentration de 10 p.p.m. pour la population des déblais de mine, alors que pour la population témoin il reste relativement assez élevé jusqu'à 20 p.p.m. d'antimoine dans le milieu.

Tableau VIIIa - Pourcentage d'individus présentant des néoformations sur la racine

Concentration en antimoine (p.p.m.)	Population des déblais de mine	Population témoin
0	15.6	14.8
5	13.3	16.6
10	3.3	10.5
20	0	9.5
40	3.5	0

Il ressort de ceci que la présence de fortes concentrations en antimoine dans le milieu inhibe le développement de néoformations sur les racines. La population des déblais de mine semble réagir plus vite que la population témoin à la toxicité du milieu, c'est-à-dire en produisant moins de néoformations dès que celle-ci devient importante. Ce serait probablement là une conséquence de l'adaptation de cette population, qui arrive à réduire ainsi les surfaces d'absorption, les néoformations racinaires étant en contact direct avec le toxique. Nos investigations sur le terrain ne nous ont jamais permis d'observer une multiplication végétative intense au niveau racinaire.

2.2.2.4. Numérations chromosomiques

Des prélèvements de méristèmes racinaires ont été réalisés après huit semaines de mise en culture *in vitro*, puis traités avec la méthodologie explicitée précédemment (cf. chapitre III, 1.4.).

Il n'a pas été possible d'étudier toutes les catégories mises en culture *in vitro* car, sur de nombreux individus, tout particulièrement ceux de la population témoin (pop. 2), les méristèmes racinaires étaient détériorés, voire inexistantes. Les résultats de nos observations sont réunies dans le tableau VIIIb, page suivante. Ils ne concernent, pour les raisons explicitées ci-dessus, que la population des déblais de mine.

Dans le cas des cultures *in vitro*, ce tableau montre bien que le nombre diploïde de chromosomes le plus fréquemment observé est $2n = 16$ ce qui correspond à la majorité des observations faites sur les populations naturelles dans le genre

Hedysarum L.

On y remarque aussi que, pour les taux d'antimoine inférieurs à 20 p.p.m., la variabilité chromosomique observée est comparable à celle que nous avons observée en dehors de toute mise en culture *in vitro*. Dans les mêmes méristèmes racinaires, il est possible de rencontrer des cellules à $2n = 16$ ou 18 chromosomes ce qui conforte les résultats d'ABDELGUERFI-BERREKIA (1986) sur la population d'*Hedysarum pallidum* du Cap Ivy (Algérie) et ceux que nous avons trouvés pour les deux populations que nous avons étudiées au Djebel Hamimat (cf. chapitre III, 1.4.).

Tableau VIIIb - Variabilité chromosomique observée dans les cellules de quelques méristèmes racinaires d'*Hedysarum pallidum* Desf. prélevés sur des cultures *in vitro* pour la population des déblais de mine.

p.p.m. Sb	Nombre de cellules observées en fonction du nombre chromosomique 2n								
	16	18	20	22	30	32	34	36	72
0	7	2							
5	4	1							
10	5	4							
20	3	3	1						
40	3	4	1	1	3	10	2	3	1
Totaux	22	14	3	1	3	10	2	3	1

Au dessus de 20 p.p.m. et surtout à 40 p.p.m. la variabilité chromosomique devient beaucoup plus importante. En effet il est possible d'observer simultanément de la polyploïdie, avec la présence de cellules diploïdes, tétraploïdes et hexaploïdes, et de l'aneuploïdie avec une oscillation du nombre de chromosomes autour des nombres diploïde et tétraploïde.

De telles altérations dans la garniture chromosomique somatique, polyploïdie et aneuploïdie, ont été fréquemment observées en culture *in vitro* (BAYLIS, 1980; MESTRE et PETIARD, 1985). Mais, généralement, ces observations ne portent pas sur des cultures de plantes entières qui, de surplis, sont cultivées sans apport de substances de croissance.

Ainsi, non seulement une variabilité chromosomique existe-t-elle déjà dans les populations naturelles de l'*Hedysarum*

pallidum du Djebel Hamimat, mais nos observations réalisées à propos de la population des déblais de mine semblent montrer qu'elle pourrait s'amplifier lorsqu'on cultive cette espèce *in vitro* en présence d'antimoine à un taux supérieur à 20 p.p.m. Ces résultats devront être confirmés, bien évidemment, par une expérimentation ultérieure plus approfondie.

2.2.3. Tests de croissance

Les moyennes des différentes mesures effectuées sont portées dans le tableau IX. Les résultats des tests statistiques (analyses de la variance univariée et multivariée) se trouvent dans les tableaux X et XI. Les résultats de toutes les mesures sont portés dans les annexes 3 à 10.

2.2.3.1. Croissance des racines

2.2.3.1.1. Longueurs moyennes

La représentation sous forme d'histogrammes (fig. 8), des longueurs moyennes des racines et des écarts à la moyenne correspondants permet de remarquer une différence très nette entre les deux populations d'*Hedysarum pallidum* dès la mise en culture (temps t_0). Cette différence persiste après huit semaines de croissance (temps t_4). Ceci se vérifie par l'application de l'analyse de la variance multivariée ou Manova (Multivariate Analysis of Variance), qui fait apparaître un effet population global très significatif ($P < 10^{-3}$). L'analyse de la variance univariée ou Anova (Analysis of variance) montre (tableau XI), pour chaque période de mesures, un effet population très significatif ($P < 10^{-3}$).

En comparant sur la même figure les longueurs moyennes des racines à différentes périodes de mesures, on constate que:

- Dans la population des déblais de mine, la longueur moyenne des racines plongées dans le milieu contenant 40 p.p.m. d'antimoine au temps t_0 égalise celle des racines se trouvant dans le milieu sans antimoine. Après une semaine de mise en culture elle devient nettement inférieure à cette dernière, cette différence s'accroissant au bout de huit semaines. Lorsque les concentrations sont inférieures à 40 p.p.m., les différences, entre les longueurs moyennes des racines provenant du milieu sans antimoine et celles se trouvant dans les milieux contenant de l'antimoine, restent pratiquement identiques depuis la mise en culture jusqu'à la fin de l'expérimentation;

- Dans la population témoin, la longueur moyenne des racines plongées dans le milieu sans antimoine, à la mise en culture, est inférieure à toutes les longueurs moyennes des racines se trouvant dans les milieux contenant de l'antimoine. Mais, dès le

Tableau IX - Moyennes et écarts types de la moyenne en fonction du temps et de la concentration en antimoine dans le milieu pour tous les paramètres des tests expérimentaux

p.p.m. Sb	Population des déblais de mine										Population témoin									
	0		5		10		20		40		0		5		10		20		40	
	m	SD	m	SD	m	SD	m	SD	m	SD	m	SD	m	SD	m	SD	m	SD	m	SD
RAt0	1.1	0.07	1.01	0.06	0.9	0.07	0.75	0.07	1.08	0.07	0.7	0.06	0.77	0.06	0.86	0.07	0.92	0.04	0.92	0.04
RAt1	3.08	0.21	2.77	0.24	2.64	0.22	1.9	0.23	2.5	0.23	2	0.18	1.76	0.22	1.5	0.16	1.78	0.19	1.22	0.09
RAt2	4.23	0.34	3.9	0.39	3.5	0.31	2.86	0.38	3.22	0.33	2.54	0.24	2.3	0.32	2.01	0.24	2.6	0.33	1.46	0.13
RAt4	5.91	0.78	6.03	0.92	4.47	0.49	3.96	0.66	4.66	0.66	3.56	0.45	2.73	0.45	2.46	0.32	3.59	0.64	1.47	0.38
PA1	1.18	0.07	1.11	0.07	1.04	0.08	0.86	0.07	1.1	0.09	1.01	0.09	1.06	0.09	1	0.09	1.25	0.13	0.94	0.07
PA2	2.11	0.13	1.96	0.14	2	0.16	1.68	0.12	1.78	0.15	1.71	0.21	1.51	0.17	1.48	0.15	1.8	0.17	1.38	0.15
PA3	2.83	0.19	2.64	0.23	2.78	0.24	2.23	0.19	2.17	0.19	2.34	0.29	1.92	0.22	2.04	0.24	2.37	0.26	1.57	0.16
PA4	6.46	0.67	7.18	0.78	6.28	0.62	5.7	0.66	5.11	0.63	5.58	0.69	3.38	0.51	4.06	0.67	4.76	0.65	1.51	0.3
Ft1	0.8	0.06	0.68	0.08	0.62	0.08	0.54	0.08	0.6	0.08	0.54	0.08	0.45	0.08	0.54	0.08	0.54	0.08	0.25	0.07
Ft2	1.37	0.12	1.22	0.13	1.31	0.13	1.17	0.13	1.05	0.14	1.22	0.14	0.88	0.16	1.02	0.17	1.11	0.17	0.51	0.15
Ft3	2.31	0.17	2.17	0.22	2.2	0.21	2.05	0.23	1.8	0.22	1.91	0.23	1.45	0.28	1.6	0.25	1.85	0.28	0.77	0.23
Ft4	10.6	0.87	11	1.25	11.4	1.28	10.3	1.32	8.82	1.01	10.6	1.56	7.82	1.64	7.97	1.42	9.45	1.48	2.62	0.94
Poids sec	14.5	1.74	17.1	2.33	14.9	1.74	13.7	1.98	12.7	1.93	10.8	1.79	9.55	2.12	10.4	2.01	13.4	2.16	3.8	1.19
Ramif.Ra.	2.02	0.61	2.05	0.62	2.11	0.71	1.17	0.44	0.71	0.23	0.6	0.26	1.17	0.48	0.68	0.31	1.48	0.46	0.25	0.14
Ramif.Ti.	1.14	0.26	0.8	0.23	1.11	0.26	0.94	0.23	0.77	0.19	0.91	0.27	1.05	0.28	0.8	0.22	1.14	0.25	0.4	0.18
F. étio.	4.48	0.59	3.5	0.69	5.8	1.08	5.28	0.95	3.97	0.75	4.2	1.15	4.31	1.04	4.91	1.01	4.94	0.98	1.68	0.57

m = moyenne

SD = écart type de la moyenne

RA = racine

PA = partie aérienne

F = feuilles

t0,1,2,3,4 = temps 0,1,2,3,4

Ramif.Ra. = ramifications racinaires

Ramif.Ti. = ramifications des tiges

F. étio. = feuilles étiolées

Tableau X - Résultats de l'analyse de la variance multivariée, moyennant quatre tests statistiques différents

Para- mètres	test n°	Effet population (DF=4)		Effet dose (DF=4 à 16)		Interaction population- dose (DF=4 à 16)	
		F	P	F	P	F	P
RA	1	13.6	0.0001	3.9	0.0001	2.9	0.0001
	2	13.6	0.0001	3.8	0.0001	2.8	0.0001
	3	13.6	0.0001	3.9	0.0001	2.9	0.0001
	4	13.6	0.0001	11.	0.0001	8.2	0.0001
PA	1	14.3	0.0001	2.0	0.0101	1.8	0.0229
	2	14.3	0.0001	1.9	0.0116	1.8	0.0232
	3	14.3	0.0001	2.0	0.0088	1.8	0.0225
	4	14.3	0.0001	6.8	0.0001	4.1	0.0026
FE	1	5.09	0.0005	1.4	0.1021	1.01	0.4429
	2	5.09	0.0005	1.4	0.1048	1.01	0.4426
	3	5.09	0.0005	1.4	0.0994	1.00	0.4433
	4	5.09	0.0005	4.4	0.0017	2.52	0.0405

F = valeur du test de FISHER (in SNEDECOR, 1937)

P = degré de signification : $P < 10^{-3}$ = très significatif
 $10^{-3} < P < 0.05$ = significatif
 $P > 0.05$ = non significatif

DF = degré de liberté

RA = racines

PA = parties aériennes

FE = feuilles

test n° 1 = Wilks' Lambda

test n° 2 = Pillai's Trace

test n° 3 = Hotelling - Lawley Trace

Test n° 4 = ~~Hotelling~~ Roy's Greatest Root

Tableau XI - Résultats de l'analyse de la variance univariée

Paramètres	Effet population (DF=1)		Effet dose (DF=4)		Interaction population-dose (DF=4)	
	F	P	F	P	F	P
RAt ₀	11.46	0.000	1.65	0.161	-	-
RAt ₁	50.36	0.000	4.07	0.003	2.53	0.040
RAt ₂	46.88	0.000	3.21	0.013	1.97	0.098
RAt ₄	34.46	0.000	2.51	0.042	1.91	0.108
PA _{t₁}	0.00	0.976	0.30	0.874	-	-
PA _{t₂}	10.41	0.001	1.08	0.367	-	-
PA _{t₃}	11.03	0.001	2.64	0.033	1.23	0.299
PA _{t₄}	32.56	0.000	5.04	0.000	2.41	0.048
FE _{t₁}	12.46	0.000	-	-	-	-
FE _{t₂}	8.30	0.004	-	-	-	-
FE _{t₃}	15.25	0.000	-	-	-	-
FE _{t₄}	11.08	0.001	-	-	-	-
Poids sec	16.53	0.000	2.5	0.042	1.53	0.193
Ramif. Rac.	6.92	0.008	1.71	0.146	-	-
Ramif. tiges	0.35	0.554	-	-	-	-
FE. étiolées	1.09	0.297	2.48	0.043	0.76	0.548

F = valeur du test de FISHER (in SNEDECOR, 1937)

P = degré de signification : $P < 10^{-3}$ = très significatif
 $10^{-3} < P < 0.05$ = significatif
 $P > 0.05$ = non significatif

DF = degré de liberté

RA = racines

PA = parties aériennes

FE = feuilles

t_{0,1,2,3,4} = Périodes de mesure, à la mise en culture, après une semaine, après deux semaines, après trois semaines et après huit semaines

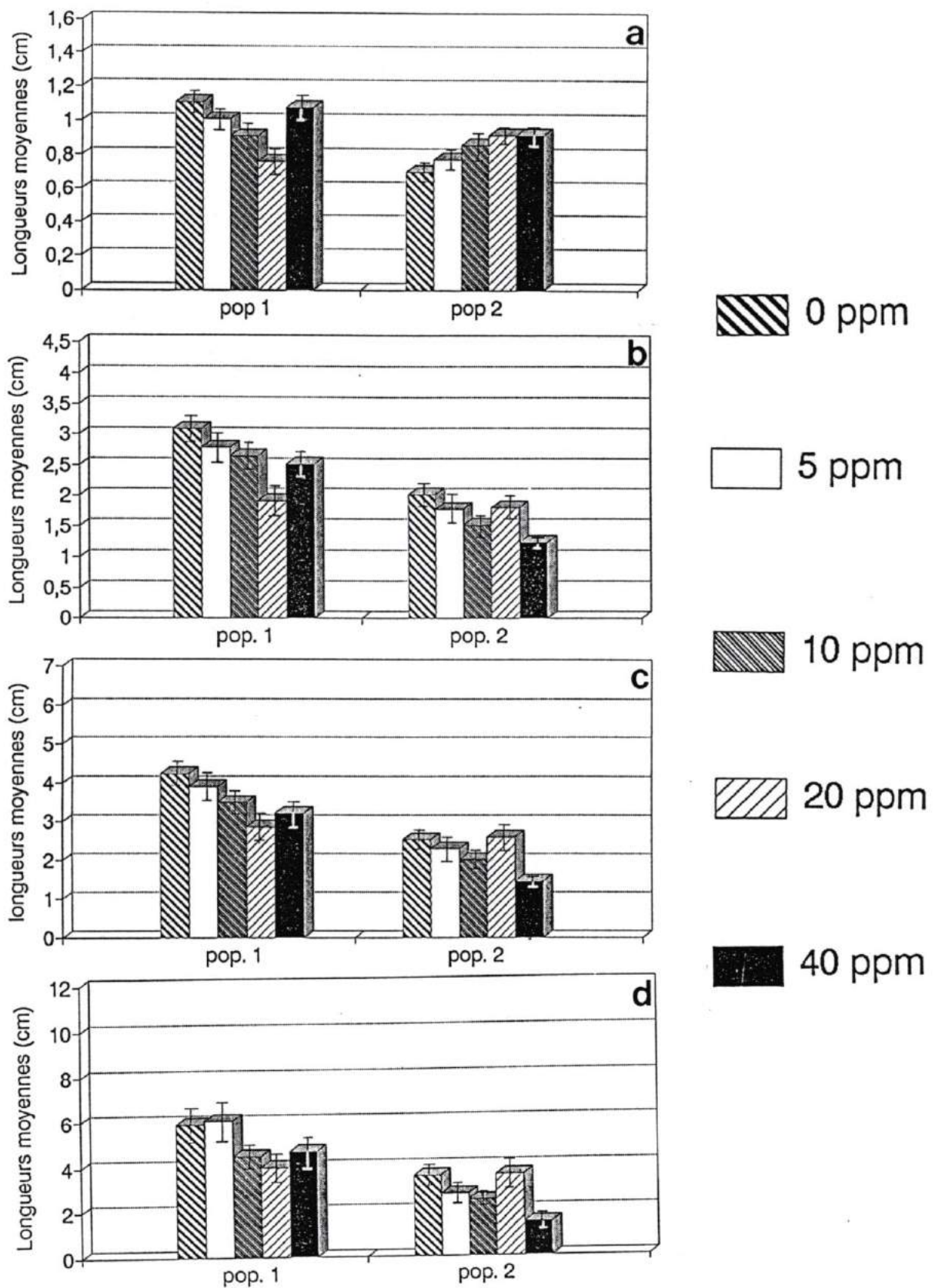


Fig. 8

Longueurs moyennes des racines de deux populations de *Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (pop.1) et population témoin (pop.2) à la mise en culture (a), après une semaine de mise en culture (b), après deux semaines (c) et après huit semaines (d).

temps t_1 , après une semaine de mise en culture, elle devient nettement supérieure à ces dernières. Cette différence s'accroît au bout de huit semaines de mise en culture pour toutes les concentrations sauf pour la concentration de 20 p.p.m.. Dans ce dernier cas, les racines égalisent celles qui se trouvent dans le milieu sans antimoine.

D'autre part, l'étude de la figure 9, montre que, pour les deux populations, les longueurs moyennes des racines augmentent avec le temps, mais pour la population témoin (pop. 2), à l'inverse de la population des déblais de mine (pop. 1), elles ne croissent presque plus après trois semaines de mise en culture et semblent marquer un palier, particulièrement pour les concentrations de 5, 10 et 40 p.p.m. d'antimoine. Lorsque la concentration est de 20 p.p.m., pour cette même population, la croissance des racines diminue sans pour autant marquer de palier.

L'application de la manova montre pour les deux populations, un effet dose global très significatif ($P < 10^{-3}$). L'analyse de la variance univariée ne fait apparaître un effet dose significatif ($10^{-3} < P < 0.05$) qu'à partir du temps t_1 , ce qui se justifie puisqu'au temps t_0 c'est la mise en culture. Par contre, cette analyse ne montre une interaction population-dose significative ($P < 0.05$) que pour le temps t_1 et non pas pour les autres temps. L'effet dose n'est donc significativement différent entre les deux populations qu'après une semaine de mise en culture. Lorsque le temps de mise en culture est plus long les réactions des deux populations en présence d'antimoine deviennent similaires. Cependant, ces analyses sont effectuées sur des mesures instantanées ne tenant pas compte de l'allongement racinaire. Celui-ci est par contre pris en considération dans les indices de tolérance qui seront traités plus loin.

De manière générale, il apparaît que les racines des deux populations présentent d'emblée une différence dans la croissance, indépendamment de la présence d'antimoine. Cependant, cet élément a quand même une action inhibitrice sur la croissance des racines des deux populations. Cette action est beaucoup plus accentuée pour la population "normale" (pop. 2) que pour la population des déblais de mine, puisqu'elle a lieu dès la concentration de 5 p.p.m. pour la première, alors qu'elle ne se manifeste nettement pour la deuxième qu'à partir de 40 p.p.m. d'antimoine dans le milieu.

2.2.3.1.2. Indice de tolérance

L'indice de tolérance (cf. chap. 2.1.5.), en prenant en considération l'allongement des racines en milieu toxique par rapport à celui des racines en milieu normal, permet de mieux rendre compte de l'action du toxique sur les deux populations, les différences existant au départ entre les deux populations n'intervenant pas alors.

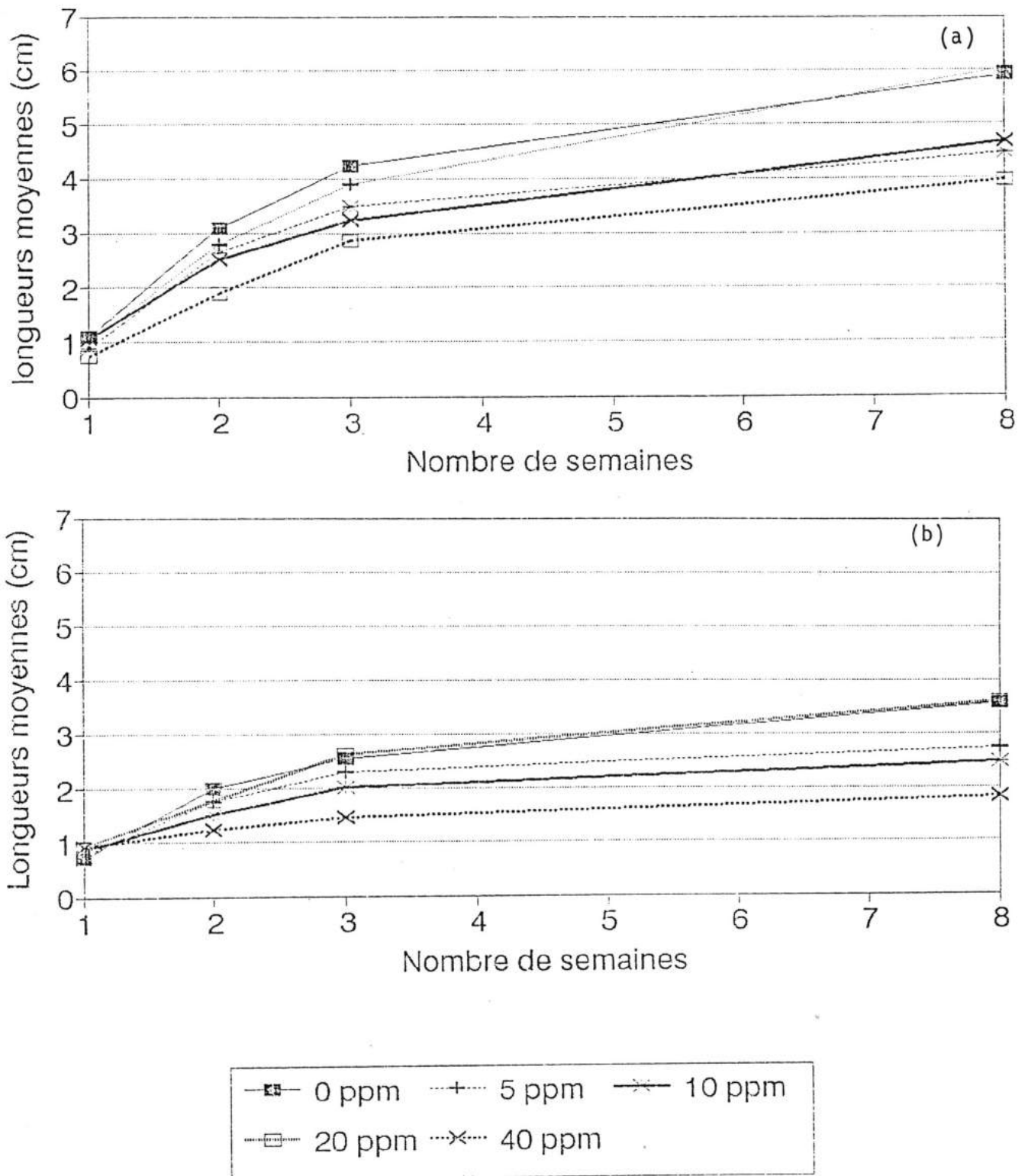


Fig. 9 : Longueurs moyennes, en fonction du temps, des racines de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (a) et population témoin (b)

Ainsi, comme on le constate sur la figure 10, les racines de la population "normale" n'ont plus que 50% de la longueur témoin (longueur des racines de la même population dans le milieu sans antimoine) dès la concentration de 5 p.p.m. en antimoine, alors que ceux de la population des déblais de mine en ont presque 90%. Les racines de cette dernière population ont encore plus de 70% de la longueur témoin lorsque la concentration en antimoine est de 40 p.p.m., alors que ceux de la population "normale" n'en ont qu'un peu plus de 20%.

D'une manière générale, il apparaît que l'indice de tolérance de la population des déblais de mine (pop. 1) est globalement plus élevé que celui de la population témoin (pop.2).

Ainsi, de par ces observations, il semble que la résistance de la population des déblais de mine au toxique soit réellement supérieure à celle de la population "normale".

2.2.3.1.3. Ramifications racinaires

L'étude de la figure 11b montre que le nombre moyen de ramifications racinaires de la population des déblais de mine est nettement supérieur à celui de la population témoin pour toutes les concentrations, mis à part pour la concentration de 20 p.p.m., ce qui rejoint les constatations faites précédemment et aurait donc les mêmes explications. L'analyse de la variance univariée fait apparaître un effet population significatif ($10^{-3} < P < 10^{-2}$).

Par ailleurs, on remarque sur la même figure, que le nombre moyen de ramifications racinaires, dans la population des déblais de mine, marque un palier jusqu'à 10 p.p.m. d'antimoine dans le milieu, puis il diminue sensiblement à partir de 20 p.p.m. de Sb. Dans la population témoin, les variations du nombre moyen de ramifications racinaires semblent se faire indépendamment de la présence d'antimoine. D'ailleurs, l'analyse de la variance univariée montre un effet dose non significatif ($P > 0.05$) pour les deux populations.

Il existe donc dès le départ une différence entre les deux populations, dans la production du nombre de ramifications racinaires. L'antimoine n'a apparemment aucune action sur celle-ci.

2.2.3.2. Croissance des parties aériennes

2.2.3.2.1. Longueurs moyennes

La comparaison des longueurs moyennes des parties aériennes des deux populations (fig. 12) permet de constater qu'il y a, en

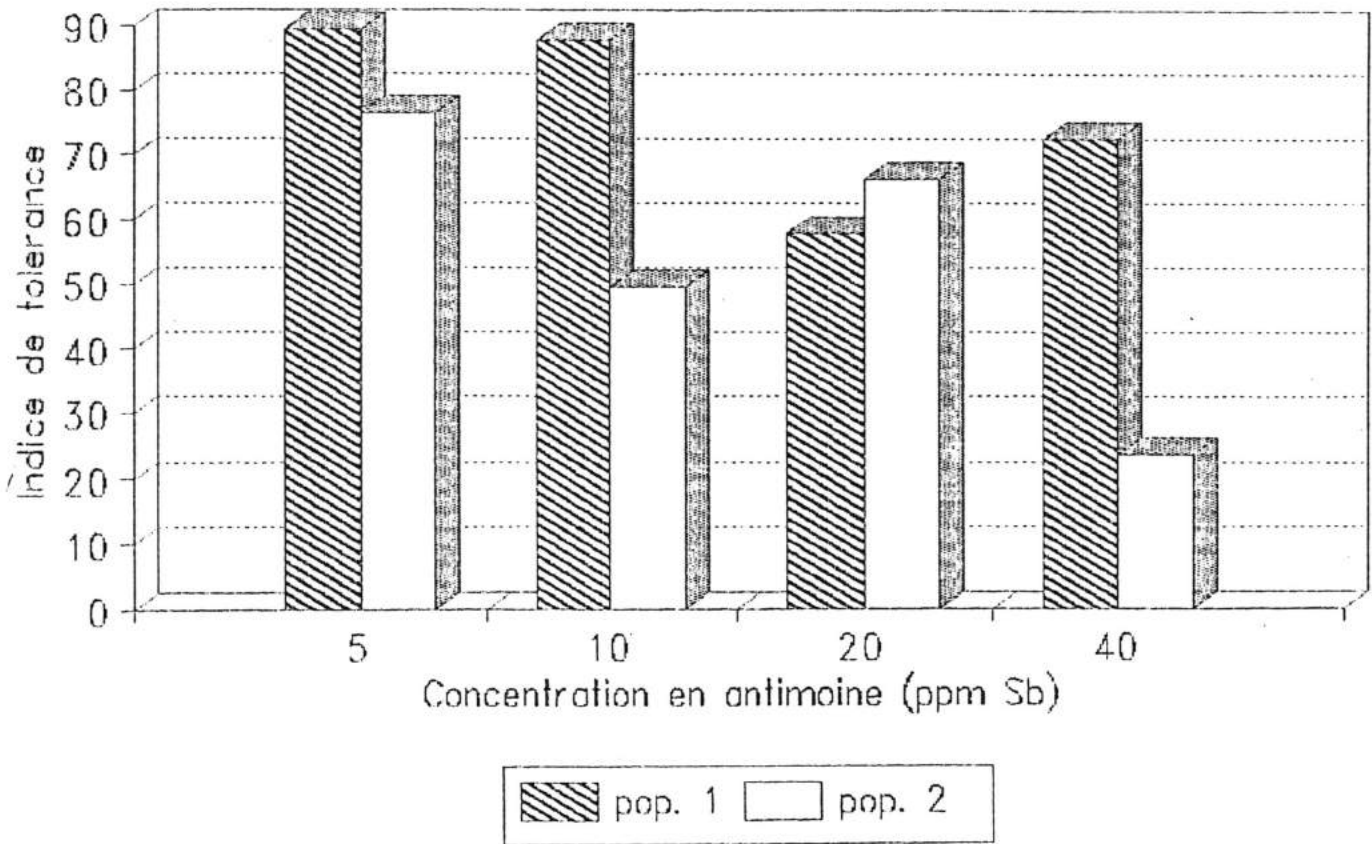


Fig. 10 - Indice de tolérance de deux populations d'*hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (pop.1) et population témoin (pop.2)

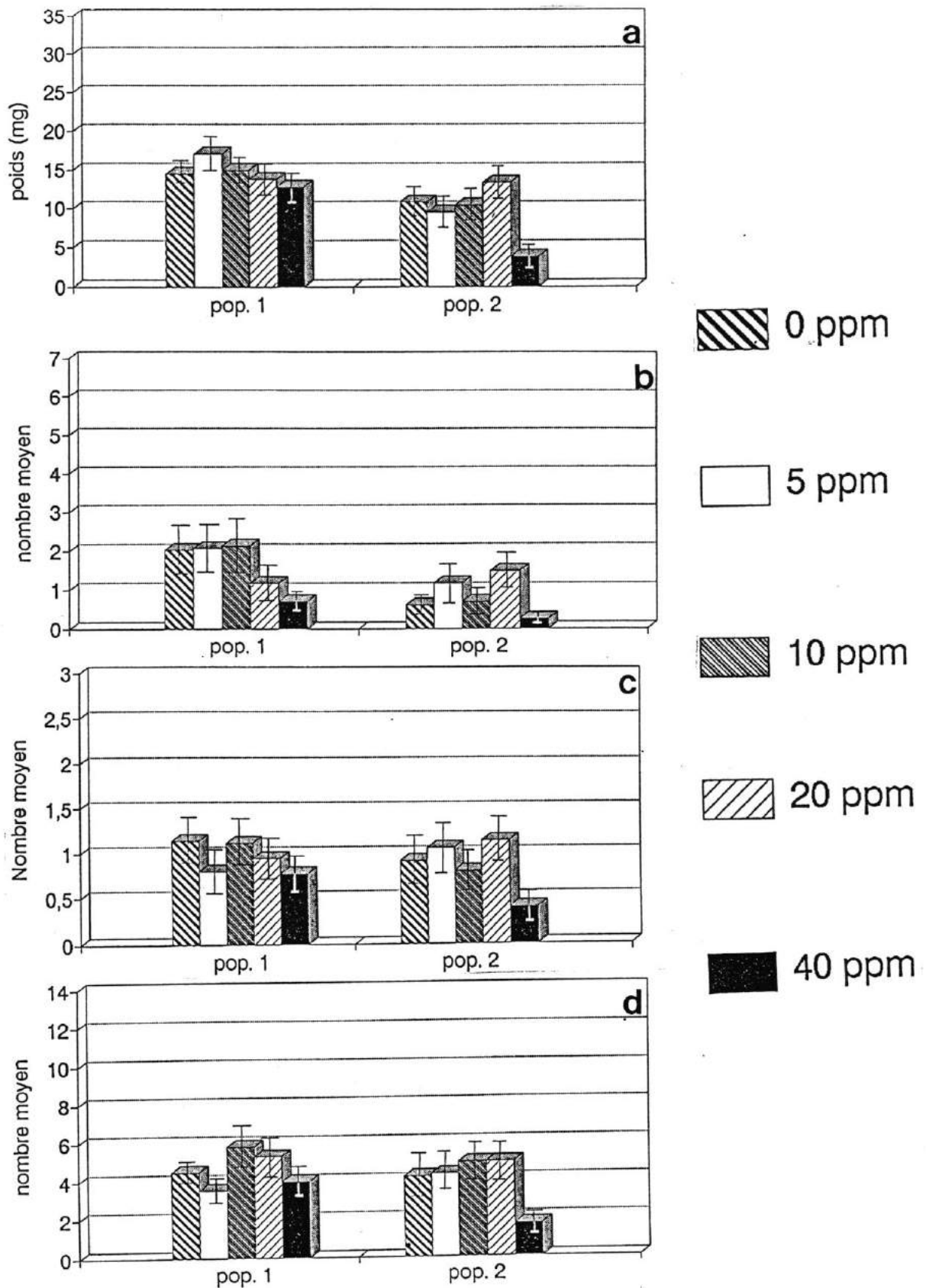


Fig. 11

Données diverses, après huit semaines de mise en culture, de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf., population des déblais de mine (pop.1) et population témoin (pop. 2) : poids sec (a), nombre moyen des ramifications racinaires supérieures à 2 cm (b), nombre moyen des ramifications de tige (c) et nombre moyen des feuilles étiolées (d).

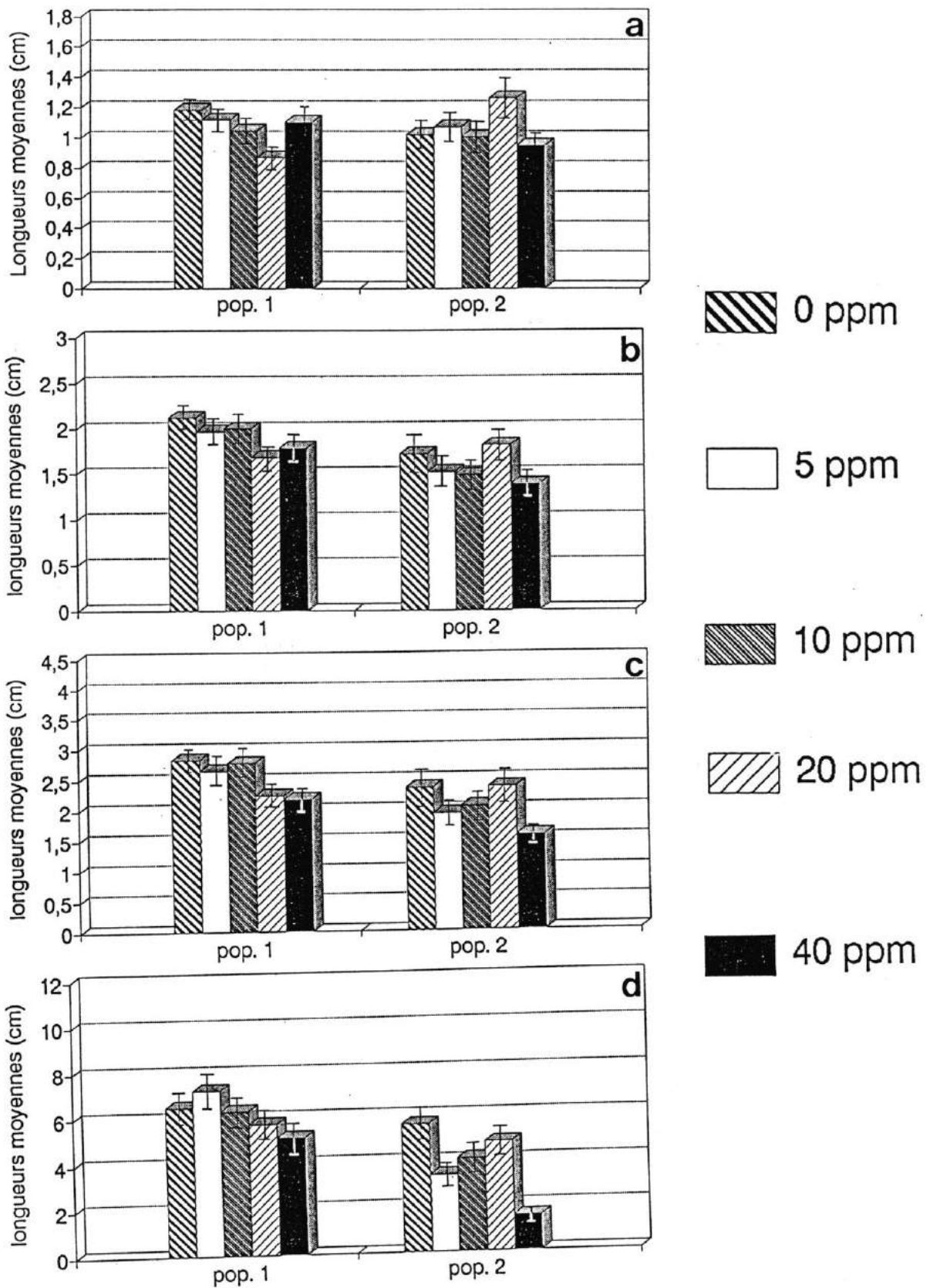


Fig. 12

Longueurs moyennes des parties aériennes de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf.: population des déblais de mine (pop.1) et population témoin (pop. 2), après une semaine de mise en culture (a), après deux semaines (b), après trois semaines (c) et après huit semaines (d).

général, très peu de différences entre elles après une semaine de mise en culture. Cependant, dès la deuxième semaine de mise en culture (fig. 12b), les parties aériennes de la population "normale" (pop. 2) deviennent nettement inférieures à celles de la population des déblais de mine (pop. 1). Cette différence s'accroît au bout de huit semaines (fig. 12d). Ceci correspond bien aux résultats de l'analyse de la variance univariée qui ne montre un effet population significatif que pour la deuxième semaine de mesure ($10^{-3} < P < 10^{-2}$), la troisième ($10^{-3} < P < 10^{-2}$) et la huitième ($P < 10^{-3}$).

L'analyse de la variance multivariée, ou manova, avait fait apparaître un effet population global très significatif ($P < 10^{-3}$).

D'autre part, en ce qui concerne la population des déblais de mine (population 1), on constate qu'après une semaine de mise en culture (fig. 12a), les longueurs moyennes des parties aériennes des individus croissant sur milieu soit exempt d'antimoine, soit contenant 40 p.p.m., sont à peu près identiques. Ultérieurement, dès la deuxième semaine de mise en culture, les deux catégories d'individus se comportent différemment, les longueurs moyennes des parties aériennes des premiers dépassent nettement celles des seconds (fig. 12b, c et d). Lorsque la concentration en antimoine est inférieure à 40 p.p.m., les longueurs des parties aériennes ne varient pratiquement pas, d'une période de mesures à une autre, par rapport à la longueur témoin.

Dans la population "normale" (population 2), après une semaine de mise en culture (fig. 12a), les longueurs moyennes des parties aériennes des individus se développant sur les milieux contenant de l'antimoine sont supérieures ou plus ou moins égales à celles des individus croissant sur le milieu sans antimoine. Mais, dès la deuxième semaine, les longueurs moyennes des lots d'individus croissant sur milieu contaminé sont nettement inférieures à celles des lots cultivés sur milieu exempt de toxique. Cependant, les parties aériennes poussant sur le milieu contenant 20 p.p.m. de Sb ne deviennent inférieures à celles des individus se développant sur le milieu témoin qu'après huit semaines de mise en culture.

Pour cette même population (population 2), les différences de longueurs moyennes des parties aériennes sont les plus marquées à la huitième semaine de mise en culture entre les lots d'individus croissant soit sur milieu témoin, soit sur milieu enrichi en antimoine. Pour la population des déblais de mine (population 1) cette différence est beaucoup moins importante.

L'étude de la figure 13 permet de constater que les parties aériennes de la population témoin croissent moins rapidement que ceux de la population des déblais de mine et ceci dès la troisième semaine de mise en culture. A 40 p.p.m. d'antimoine dans le milieu, et à partir de la même période, il y a pratiquement un arrêt de la croissance pour la première population.

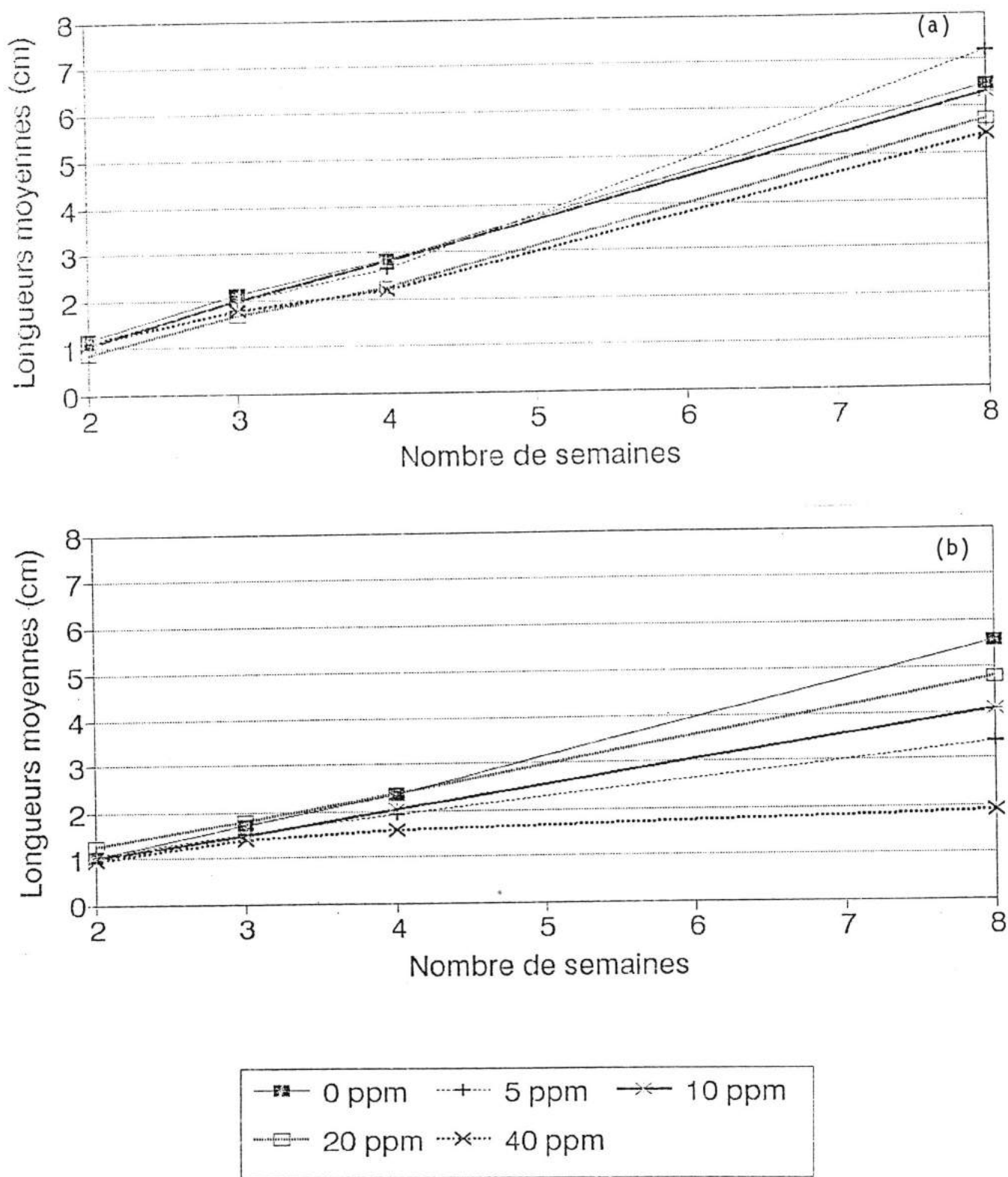


Fig. 13 : Longueurs moyennes, en fonction du temps, des parties aériennes de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (a) et population témoin (b)

L'analyse de la variance multivariée montre un effet dose global significatif ($10^{-3} < P < 0.05$) et une interaction population-dose globale significative ($10^{-3} < P < 0.05$).

L'analyse de la variance univariée fait apparaître, pour les deux populations en même temps, un effet dose significatif pour la troisième semaine de mise en culture ($10^{-2} < P < 0.05$) et la huitième semaine ($P < 10^{-3}$). L'interaction population-dose n'est significative ($P < 0.05$) qu'après huit semaines de mise en culture. L'effet dose n'est donc différent selon la population qu'après cette période.

Ainsi, il apparaît que les deux populations présentent dès le départ, indépendamment de la présence d'antimoine, une différence dans la croissance des parties aériennes. Cependant, l'antimoine a réellement une action inhibitrice sur celles-ci. Cette action n'est vraiment importante qu'à partir de la troisième semaine de mise en culture, pour les deux populations. Après huit semaines de mise en culture, elle est beaucoup plus prononcée pour la population témoin que pour la population des déblais de mine. Cette action se fait sentir dès la présence de 5 p.p.m. d'antimoine dans le milieu, pour la première, et n'agit qu'à partir de 40 p.p.m. pour la dernière.

2.2.3.2.2. Poids sec

L'étude de la figure 11a montre que le poids sec moyen des parties aériennes de la population des déblais de mine (pop. 1) est, quelle que soit la concentration en antimoine, toujours supérieur à celui de la population témoin (pop. 2).

Globalement, dans les deux populations, le poids sec diminue lorsque la concentration en antimoine augmente. Cependant, dans la population témoin, le poids sec des parties aériennes du milieu contenant 20 p.p.m. de Sb est nettement supérieur à celui des autres milieux.

Pour la population des déblais de mine la production de poids sec est comme stimulée par la présence d'une faible dose d'antimoine, le poids sec à 5 p.p.m. étant supérieur à celui des individus du milieu sans antimoine.

L'analyse de la variance univariée fait apparaître un effet population très significatif ($P < 10^{-3}$) et un effet dose significatif ($10^{-2} < P < 0.05$). L'interaction population-dose par contre, n'est pas significative ($P > 0.05$). Cependant, il ne s'agit ici que d'une comparaison de moyennes ne tenant pas compte chaque fois du poids sec en milieu normal, à l'inverse de l'indice de toxicité que nous verrons plus loin.

Les deux populations diffèrent donc aussi par le poids sec des parties aériennes. Cette différence n'est apparemment pas due à la présence d'antimoine, qui entraîne une diminution similaire du poids sec dans les deux populations.

2.2.3.2.3. Indice de toxicité

L'indice de toxicité, ou le poids sec obtenu à chaque concentration du toxique rapporté au poids sec des individus du milieu témoin, permet de faire abstraction des différences préexistantes entre les deux populations et de mieux estimer la phytotoxicité de l'élément testé.

Les indices de toxicité calculés pour les deux populations et pour les différentes concentrations sont portés dans le tableau.XII.

Tableau XII - Indices de toxicité pour la population des déblais de mine et la population témoin

Concentration en antimoine (p.p.m.)	Population des déblais de mine		Population témoin	
	Indice de toxicité	Interprétation	Indice de toxicité	Interprétation
5	1.182	effet bénéfique	.87	effet phytotoxique
10	1.031	effet bénéfique	.96	effet phytotoxique
20	.948	effet phytotoxique	1.238	effet bénéfique
40	.88	effet phytotoxique	.35	effet phytotoxique

On constate que pour la population des déblais de mine, l'antimoine n'est phytotoxique qu'à partir d'une concentration de 20 p.p.m., alors que pour la population témoin il l'est dès que la concentration est de 5 p.p.m.. Cependant, pour cette dernière population, lorsque la concentration est de 20 p.p.m., on remarque plutôt un effet bénéfique.

Par ailleurs, on voit qu'à 40 p.p.m. l'effet phytotoxique est beaucoup plus prononcé pour la population normale que pour la population des déblais de mine.

Ainsi, il apparaît que l'antimoine semble globalement beaucoup plus phytotoxique pour la population témoin que pour la population des déblais de mine et cela dès les plus faibles teneurs du milieu.

2.2.3.2.4. Ramifications des tiges

Les nombres moyens de ramifications des tiges (fig. 11c) de la population des déblais de mine (population 1) diffèrent très peu de celles de la population témoin (population 2). Pour les deux populations, on observe de faibles variations des nombres moyens en question, n'ayant apparemment aucun rapport avec celles de l'antimoine.

L'analyse de la variance univariée ne fait apparaître aucun effet population ou effet dose significatif ($P > 0.05$).

Les nombres moyens de ramifications des tiges ne permettent donc pas de différencier les deux populations. Par ailleurs, l'antimoine n'a apparemment aucune action sur le nombre de ramifications de tiges.

2.2.3.2.5. Les feuilles

a) Nombre moyen de feuilles formées

Le nombre moyen de feuilles formées en fonction du temps (fig. 15) augmente plus rapidement pour la population des déblais de mine (population 1) que pour la population "normale" (population 2). Cette différence est encore plus accentuée lorsque la concentration en antimoine est de 40 p.p.m..

D'autre part, le nombre moyen de feuilles de la population des déblais de mine est, dès la première semaine de mise en culture, globalement supérieur à celui de la population témoin (fig. 14a); cette différence persistant jusqu'à la huitième semaine.

Cependant, en étudiant la figure 14, on constate que pour les deux populations, le nombre moyen de feuilles ne varie que très légèrement, en fonction de la concentration en antimoine du milieu, pour toutes les périodes de mesure.

L'analyse de la variance multivariée montre un effet population global très significatif ($P < 10^{-3}$), mais pas d'effet dose ni d'interaction population-dose significatifs ($P > 0.05$).

L'analyse de la variance univariée fait apparaître un effet population significatif pour chaque période de mesure ($10^{-3} < P < 10^{-2}$).

De ce fait, les deux populations diffèrent d'emblée par le nombre de feuilles produites. Mais, l'antimoine n'a apparemment aucune action sur ce nombre.

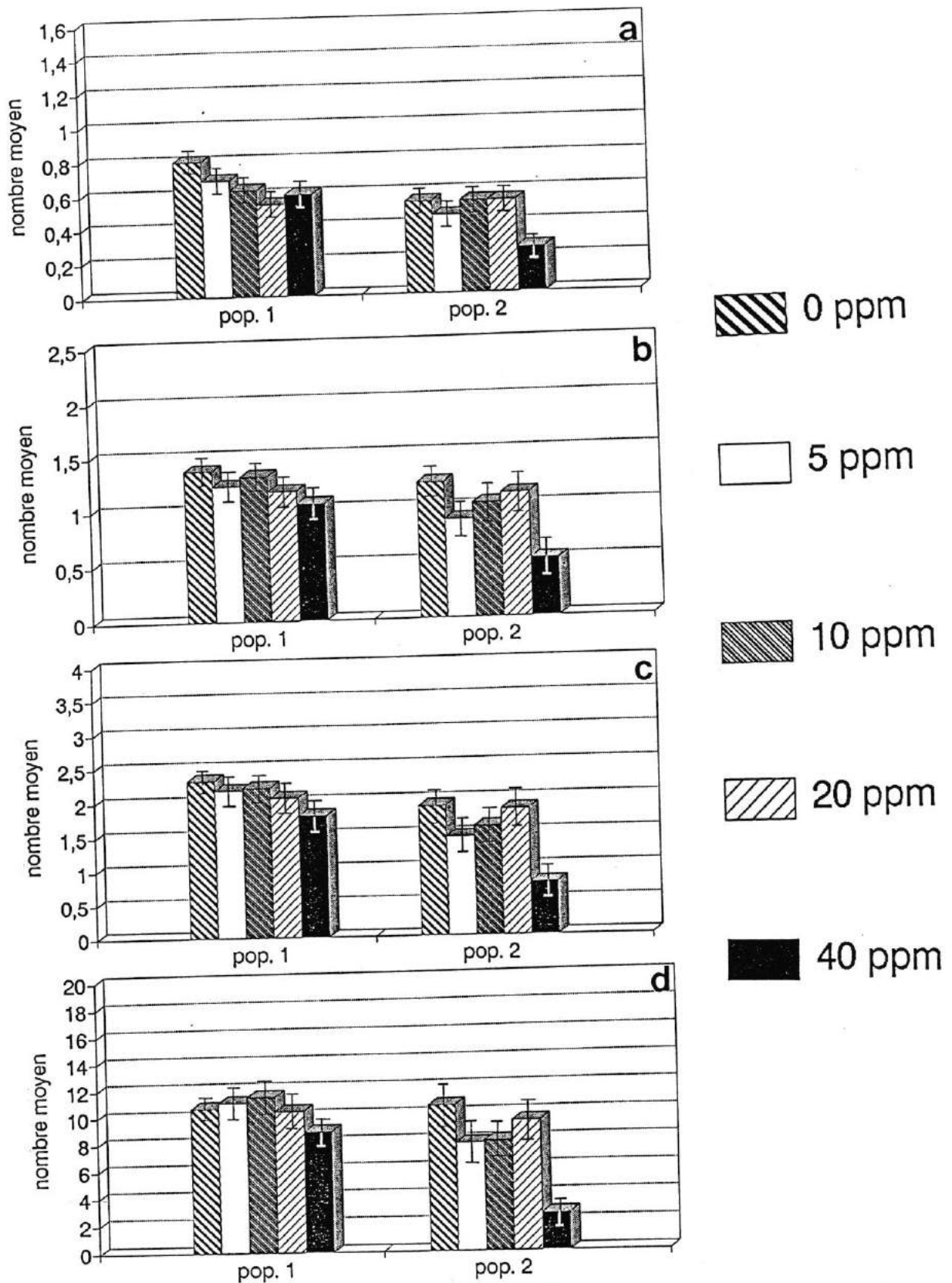


Fig. 14

Nombre moyen des feuilles de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf., population des déblais de mine (pop. 1) et population témoin (pop. 2), après une semaine de mise en culture (a), après deux semaines (b), après trois semaines (c) et après huit semaines (d).

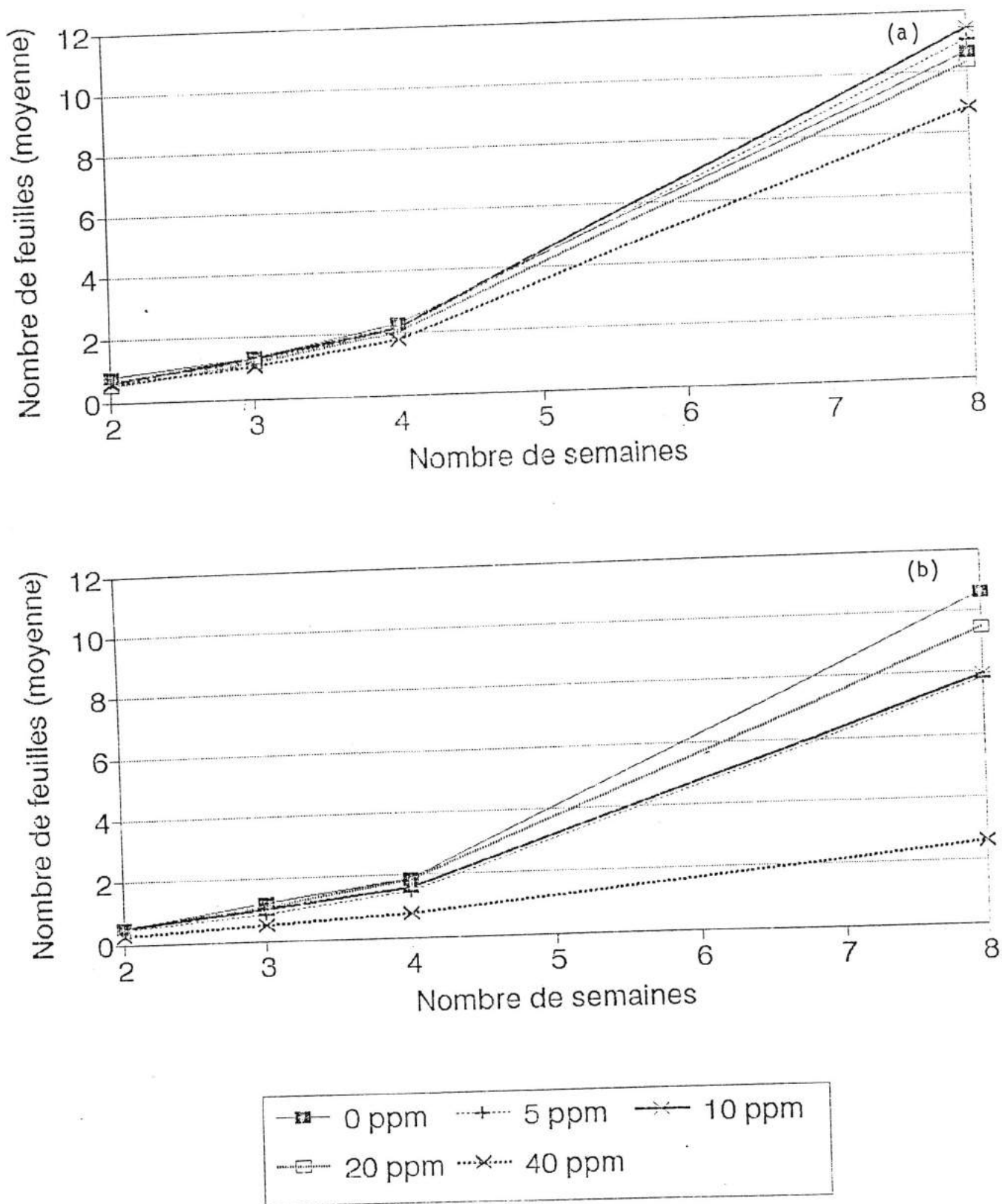


Fig. 15 : Nombre moyen des feuilles, en fonction du temps, chez deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (a) et population témoin (b)

b) Nombre moyen de feuilles étiolées

Le nombre moyen de feuilles étiolées de la population des déblais de mine (fig. 11d) est globalement peu différent de celui de la population témoin. Pour les deux populations, on constate un plus grand nombre de feuilles étiolées pour les concentrations de 10 et 20 p.p.m. de Sb que pour celles de 0 et 5 p.p.m.. A 40 p.p.m., on remarque moins de feuilles étiolées pour les deux populations, ce qui s'explique par le fait qu'à cette concentration il y a déjà moins de feuilles produites.

L'analyse de la variance univariée fait apparaître un effet dose significatif ($10^{-2} < P < 0.05$) mais pas d'effet population ou d'interaction population-dose significatifs

Le nombre de feuilles étiolées n'est donc apparemment pas lié au type de population. Cependant, ce nombre semble augmenter, mais de façon similaire pour les deux populations, en présence d'antimoine.

2.2.4. Etude de l'absorption de l'antimoine par les plantules

Les teneurs en antimoine des plantules sont représentées sur la figure 16. Un malencontreux accident de manipulation a entraîné la perte de l'échantillon correspondant à la concentration de 10 p.p.m. pour la population témoin. Cependant, l'étude de la figure 16 permet tout de même de constater que, pour les deux populations, la concentration en antimoine dans la plante augmente en même temps que celle de cet élément dans le milieu et de façon pratiquement identique jusqu'à 20 p.p.m. de Sb dans le milieu. Mais, à 40 p.p.m., la population "normale" (population 2) prélève des quantités relativement trop élevées (1600 p.p.m.) par rapport à la population des déblais de mine (population 1) qui n'en prélève que 870. Ces quantités sont d'autant plus élevées que le nombre d'individus analysés n'est que de six dans la première, la mortalité y étant particulièrement élevée pour la concentration en question, alors qu'il est de vingt sept dans la seconde. Aussi, rapportée à l'individu, la teneur en antimoine est de 266 p.p.m. pour la population témoin, alors qu'elle n'est que de 32 p.p.m. pour la population des déblais de mine.

L'étude des rapports d'accumulation (fig. 17), calculés à partir des quantités réelles d'antimoine (en mg) dans le milieu et dans les plantules, permet de constater que ceux-ci diminuent pour la population des déblais de mine, lorsque la concentration en antimoine du milieu augmente, alors que, pour la population témoin, ils augmentent.

Concentration du Sb dans les plantes *Hedysarum pallidum* (populations 1 et 2)

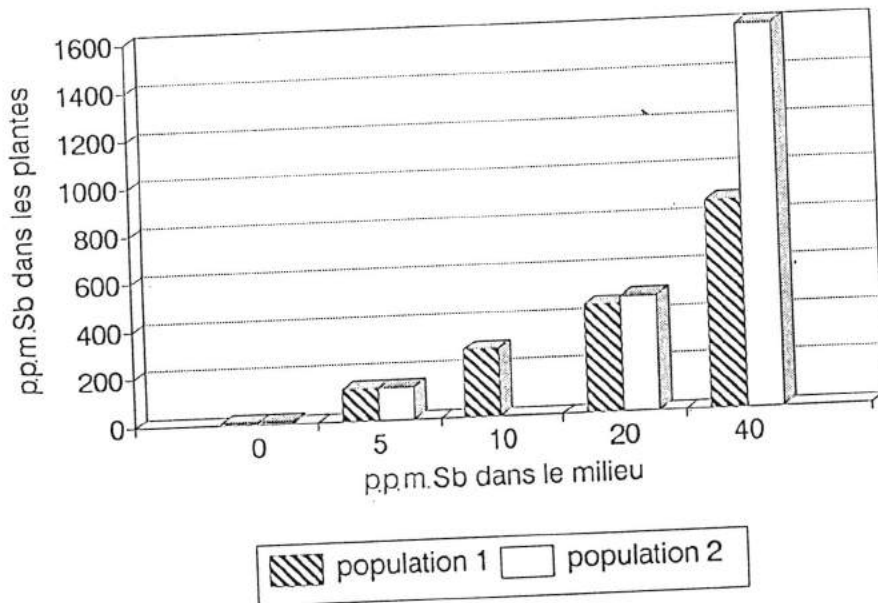


Fig. 16 - Teneur en antimoine de la biomasse aérienne de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (1) et population témoin (2)

Rapports d'accumulation *Hedysarum pallidum* (populations 1 et 2)

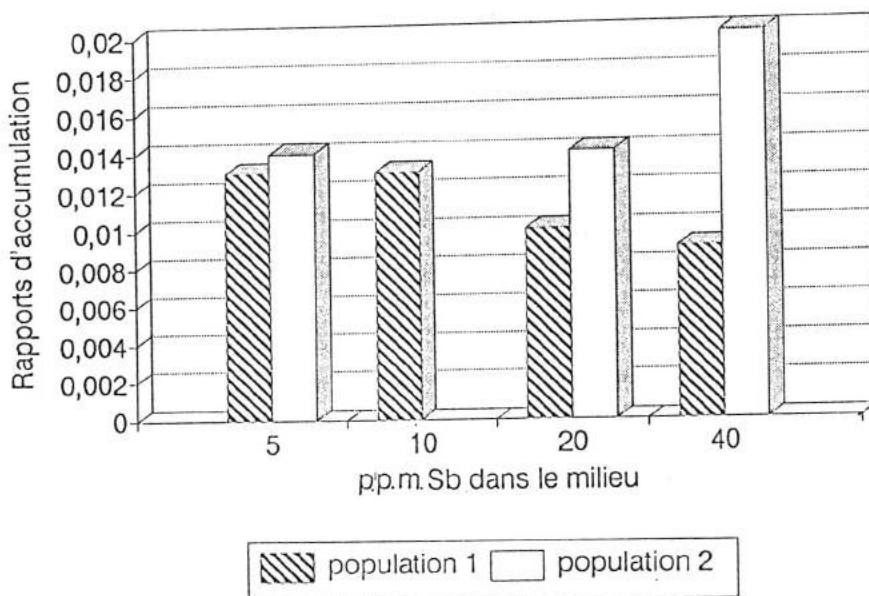


Fig. 17 - Rapports d'accumulation de deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. : population des déblais de mine (1) et population témoin (2)

La population des déblais de mine, se comporte donc en accumulatrice lorsque les teneurs en antimoine du milieu sont faibles, puis elle cesse de l'être quand celles-ci deviennent trop importantes. Dans les mêmes conditions la population témoin, au contraire, continue à accumuler l'antimoine et même à en concentrer.

Ainsi, la population des déblais de mine arrive à freiner l'absorption du toxique lorsqu'il devient trop important dans le milieu, alors que la population "normale" ne peut l'empêcher.

2.3. DISCUSSION ET CONCLUSION

L'utilisation des cultures *in vitro* a fait apparaître un phénomène peu courant. Il s'agit des bourgeons adventifs et des rejets qui se sont développés sur les cotylédons, les collets, les hypocotyles et les racines de plusieurs plantules des deux populations d'*Hedysarum pallidum*. Ce phénomène est apparemment inexistant pour *Hedysarum pallidum* dans la nature. A notre connaissance de tels bourgeons et rejets n'ont jamais été observés auparavant, *in vivo*, pour cette espèce et pour d'autres légumineuses par d'autres auteurs.

L'étude histologique des cotylédons présentant des rejets et des bourgeons adventifs a mis en évidence l'existence de nombreuses zones de prolifération de cellules méristématiques souvent accompagnées de massifs criblés et de plusieurs structures ressemblant pour certaines à des bourgeons néoformés et pour d'autres à des embryons somatiques à différents stades de développement

L'apparition de telles structures est d'autant plus surprenante qu'il s'agit ici de cultures de germinations entières et non de celles de fragments isolés comme cela se fait de coutume pour l'obtention d'embryons somatiques. GAUTHERET (1959) fait remarquer d'ailleurs que l'isolement d'un fragment de végétal a pour effet de soustraire ses cellules à l'action inhibitrice qu'elles subissent au sein de la plante et d'entraîner ainsi leur prolifération. Il est donc probable qu'en ce qui concerne nos cultures *in vitro* après une mort partielle des plantules, les parties de celles-ci restant en vie se comportent alors comme des fragments isolés.

Le développement de ces néoformations dans les cultures s'est fait sans qu'aucune hormone n'ait été utilisée. Or, l'utilisation des hormones est plutôt de règle dans la plupart des travaux de recherche menés en vue de l'induction d'une embryogenèse somatique (GROSSER et COLLINS, 1984; HUSSEY et GUNN, 1984; JOHNSON et al., 1981; LAKSHMISITA et al., 1980 et MARIOTTI et al., 1984).

Toutefois, GAUTHERET (1959) signale que HELLER (1954)

avait constaté que certains micro-éléments, tel que le nickel, l'aluminium, l'iode, le cobalt et le molybdène sont capables de stimuler une prolifération des tissus. Ces oligoéléments agiraient selon GAUTHERET (1959), à la manière de certains toxiques qui manifestent des propriétés excitantes lorsqu'on les administre à faible dose.

L'antimoine aurait vraisemblablement un effet identique à celui de ces éléments traces sur nos cultures *in vitro*. La population des déblais de mine étant adaptée à la présence du toxique dans le milieu ne réagit donc qu'à partir de concentrations relativement élevées en antimoine, alors que la population témoin, moins adaptée, réagit dès la présence de très faibles doses.

L'apparition des néoformations dans les cultures se trouvant en milieu non contaminé pourrait s'expliquer par l'existence probable d'impuretés dans la gélose. Ces impuretés peuvent être en effet, selon GAUTHERET (1959), en quantité suffisante pour avoir une action identique à celle des micro-éléments ajoutés.

Cependant, la mise en culture d'*Hedysarum pallidum* sur un substrat trop différent du substrat d'origine aurait probablement pour conséquence un léger stress qui pourrait également être à l'origine des néoformations dans les cultures en question. En effet, le substrat d'origine, pauvre en éléments minéraux nécessaires, présente un pH basique alors que le milieu de culture, riche en éléments minéraux essentiels, possède un pH acide.

Le développement des néoformations sur les racines, en milieu non contaminé ou faiblement contaminé, vraisemblablement la conséquence de la richesse du milieu en éléments minéraux, est inhibé lorsque la concentration du milieu en antimoine est élevée. Cette inhibition s'expliquerait par le fait que le contact direct des tissus racinaires avec le milieu contaminé entraînerait une plus importante absorption de l'antimoine par ceux-ci, d'où leur intoxication et donc une inhibition de la prolifération des jeunes tissus.

La population des déblais de mine, en présence de fortes concentrations en antimoine, doit vraisemblablement accumuler beaucoup plus d'antimoine dans ses racines que la population "normale", ce qui expliquerait qu'elle ait moins de rejets racinaires que cette dernière en milieu contaminé.

C'est d'ailleurs pour cette population des déblais de mine que nous avons pu observer une variabilité chromosomique importante dans les méristèmes racinaires (polyploïdie, aneuploïdie) qui semble être induite par la mise en culture *in vitro* en présence d'antimoine. Cependant il paraît prématuré d'attribuer cette variabilité chromosomique à la seule présence d'antimoine dans le milieu de culture, une expérimentation plus approfondie s'avérant nécessaire pour étayer ces premières observations.

Par ailleurs, pour la population des déblais de mine, les rapports d'accumulation diminuent lorsque la concentration du milieu en antimoine augmente, alors que pour la population témoin ils continuent à augmenter dans les mêmes conditions. La population des déblais de mine arrive donc à freiner l'absorption du toxique lorsqu'il devient trop important dans le milieu, et à l'accumuler probablement au niveau des racines, alors que la population "normale" ne peut l'empêcher de pénétrer dans ses parties aériennes. Cela se traduit donc par des teneurs en antimoine dans la biomasse aérienne, beaucoup plus importantes pour la population témoin que pour la population des déblais de mine. Ceci semble dénoter une importante adaptation de cette dernière population.

De tels résultats sont appuyés par ceux de BAKER (1978) qui en testant la tolérance au zinc de *Silene maritima*, sur une longue période (12 à 15 semaines), trouve que les populations des zones minières accumulent plus de zinc dans leurs racines que les populations de contrôle, qui accumulent beaucoup plus de toxique dans leurs parties aériennes.

Ces résultats sont cependant en contradiction avec ceux d'autres auteurs pour d'autres espèces et d'autres métaux lourds (McNEILLY et BRADSHAW, 1968; JOWETT, 1958; SIMEONIDIS et al., 1985; WILKINS, 1957; LINWU et KRUCKEBERG, 1985; TAYLOR et CROWDER, 1983; etc.), selon lesquels les populations des sites contaminés présenteraient une plus importante accumulation du toxique que celles des zones normales.

Cependant, cette contradiction pourrait s'expliquer par le fait que le mode de tolérance diffère en réalité, selon les espèces et selon le toxique. PETERSON (1983), en fait d'ailleurs la constatation dans son résumé des différents travaux sur l'adaptation aux métaux toxiques.

Les teneurs en antimoine déterminées dans la biomasse des parties aériennes des deux populations d'*Hedysarum pallidum*, lors des tests expérimentaux dépassent de très loin celles qui ont été trouvées jusqu'à présent par d'autres auteurs dans les régions minières (cf. chap. I). Elles représentent par ailleurs, le double ou même le quadruple des teneurs trouvées par nous-même pour la population mère des déblais de mine (cf. chap. IV, 2.1.1.) qui se trouvait d'ailleurs sur un substrat contenant cinq cent fois plus d'antimoine que le milieu le plus contaminé des tests expérimentaux. Cependant, ceci peut s'expliquer par le fait que le composé d'antimoine utilisé pour les expérimentations (tartrate d'antimoine) est très soluble dans l'eau alors que celui qui se trouve dans la zone minière (le trioxyde d'antimoine), ne l'est presque pas.

450ppm

L'absorption de quantités d'antimoine plus importantes par la population témoin que par la population des déblais de mine se traduit par une phytotoxicité plus importante pour la première et donc par une diminution des longueurs moyennes des parties aériennes et des racines significativement plus élevée que pour la population des déblais de mine.

Cependant, l'effet traitement sur les longueurs moyennes des racines n'est significativement différent entre les deux populations qu'au temps t_1 mais pas aux autres temps. Ceci se justifie au temps t_0 , puisque c'est la mise en culture; mais aux autres périodes cela paraîtrait inexplicable si ce n'était le fait qu'avec le temps, la vitesse d'élongation des racines décline et devenant pratiquement constante ne permette donc plus de différencier les populations. Ceci apparaît effectivement lors du tracé des courbes de croissance des racines en fonction du temps. BAKER (1987) attire l'attention sur un tel problème et sur le choix de la période de mesure pour calculer l'indice de tolérance. Pour cette raison, nous avons donc choisi les mesures effectuées après une semaine pour calculer cet indice. Celui-ci fait d'ailleurs apparaître la supériorité de la résistance à l'antimoine de la population des déblais de mine sur celle de la population témoin.

D'autre part, l'effet dose sur les longueurs moyennes des parties aériennes n'est significativement différent entre les populations qu'après huit semaines de mise en culture. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'action de l'antimoine ne se fait sentir, de façon identique pour les deux populations, qu'après trois semaines de mise en culture, et qu'il faut donc encore cinq semaines pour que la résistance des deux populations soit mise à l'épreuve.

Le nombre moyen des feuilles, des ramifications racinaires et des ramifications de tiges, ne présentant pas d'effets doses significatifs ne doivent donc pas être des indicateurs sensibles de la toxicité du métal, à l'inverse de l'élongation des racines, de celle des parties aériennes, du poids sec et du nombre de feuilles étiolées. Ces deux derniers paramètres ne sont pas cependant, des indicateurs sensibles de l'interaction population-dose.

L'effet population est par contre significatif, avant même toute action significative de l'antimoine, pour presque tous les paramètres pris en considération. Ceci indique que les deux populations sont d'emblée très différentes, comme si elles étaient originaires de milieux très différents ou de régions très éloignées l'une de l'autre. Cela est bien vrai pour les milieux, particulièrement du point de vue de la concentration en antimoine, mais pas pour la localisation puisqu'elles sont très peu distantes l'une de l'autre (cf. chap. IV, 2.1.1.). Les deux populations sont donc vraisemblablement en train de se différencier l'une de l'autre.

L'existence de valeurs anormalement élevées pour la population "normale", pour toutes les données, lorsque la concentration est de 20 p.p.m. en antimoine dans le milieu, paraît inexplicable et en contradiction avec les résultats précédents. Toutefois, l'espèce étant allogamme (cf. chap. IV, 1.3.) et les deux populations très peu distantes l'une de l'autre (cf. chap. IV, 2.1.1.), un flux de gènes entre les deux populations est tout à fait envisageable. Ce qui donnerait donc lieu à l'apparition d'individus beaucoup plus résistants au sein de la population témoin.

En effet selon ANTONOVICS et al. (1975), les populations tolérantes étant normalement entourées par des populations normales non tolérantes, le flux de gènes entre les deux populations est possible lorsque les aires de contamination sont petites ou que le passage d'une population à l'autre s'effectue brutalement. Or, les deux situations coexistent sur notre terrain d'étude (cf. chap. II), puisque le trioxyde d'antimoine étant très peu soluble, les zones contaminées restent assez localisées et ne concernent que la proximité des puits de mine et des bords des oueds, et sont donc entourées par plusieurs zones non contaminées ou faiblement contaminées.

Ainsi, McNEILLY et BRADSHAW (1968) ont montré l'existence de 3% d'individus résistants au cuivre parmi les populations non tolérantes d'*Agrostis tenuis*. KARATAGLIS (1980) en étudiant également la résistance au cuivre de plusieurs populations d'*Agrostis tenuis*, mais sur un transect, trouve que celle-ci diminue lorsqu'on s'éloigne de la zone minière et conclue à l'existence d'un flux de gènes. KARATAGLIS et al. (1986) arrivent aux mêmes conclusions quant à la résistance au zinc et au plomb de plusieurs populations de *Festuca rubra* et d'*Agrostis tenuis*. BRADSHAW et al. (1969) quant à eux montrent que des génotypes tolérants existent dans les populations normales avec une fréquence de 2% pour le zinc et le cuivre.

Ainsi, il semble bien que la population des déblais de mine se soit adaptée à la présence de fortes quantités d'antimoine et qu'elle se soit donc, par là-même, différenciée de la population témoin. Celle-ci présenterait elle aussi, une certaine tendance vers une adaptation aux fortes concentrations en antimoine, en raison de l'existence d'un flux de gènes avec la population des déblais de mine. Ceci laisse supposer qu'il y ait une évolution de races tolérantes ou écotypes parmi les populations d'*Hedysarum pallidum*. Une telle évolution peut paraître d'autant plus invraisemblable que la mine n'existe que depuis moins de 100 ans, son exploitation ayant cessé en 1952. Cependant, ANTONOVICS et al. (1971) notent que l'évolution de la tolérance aux métaux a dû se faire très rapidement se référant pour cela aux travaux de JONES (1922) selon lesquels la plupart des chantiers miniers sont d'origine relativement récente, ne datant que de 50 à 100 ans. Toutefois, ces mêmes auteurs, s'appuyant sur les travaux de DUVIGNEAUD et DENAEYER-DE SMET (1963) et NICOLLS et al. (1965), attirent l'attention sur le fait qu'il existe déjà, dans les régions minière, des "poches" de plantes tolérantes établies depuis très longtemps, dérivant probablement originellement de plantes se développant sur des affleurements des minerais.

3 - ETUDE DE LA VARIABILITE ENZYMATIQUE

Les enzymes se présentent sous différentes formes moléculaires appelées isoenzymes et mises en évidence, sous forme de "bandes", par des analyses électrophorétiques.

Les individus d'une même population peuvent présenter des isozymes (ou isoenzymes) différents. Ainsi, les populations d'une même espèce peuvent différer par la fréquence des isozymes.

Les isoenzymes apparaissent, ainsi que le font remarquer LEFEBVRE et KAKES (1981), comme une expression beaucoup plus directe et précise de la variation génétique que les caractères morphologiques dont le déterminisme génétique est souvent complexe.

Or, les études de ALLARD et KAHLEK (1971), CLEGG et ALLARD (1972) et de HAMRICK et ALLARD (1972) sur *Avena barbata* L. en Californie, ont montré que la variation isoenzymatique observée pour cette espèce est étroitement liée à des variations de milieu. NEVO et al. (1981) et NEVO et al. (1984) ont quant à eux, pu mettre en évidence, par des tests au laboratoire et dans la nature, l'action sélective du mercure sur des isozymes d'organismes marins.

De ce fait, il nous a paru intéressant de voir si la présence de fortes teneurs en antimoine dans le milieu n'avait pas entraîné une variation isoenzymatique pour des populations naturelles d'*Hedysarum pallidum*, d'autant plus que la tolérance de celles-ci à l'antimoine a été démontrée par des tests expérimentaux (cf. chap. IV, 2.).

3.1. MATERIEL ET METHODES

3.1.1. Matériel végétal

Les graines des deux populations d'*Hedysarum pallidum* ayant fait l'objet des tests expérimentaux et dont le choix a déjà été explicité (cf. chap. IV, 2.1.1.), ont été mises en culture en tube à essai, sur le milieu n°3 utilisé pour les tests expérimentaux (cf. chap. III, 2.1.2.1.). Une seule graine est mise par tube, après une préparation identique à celle qui est décrite au chapitre IV, 2.1.2.3., puis placées en chambre de culture.

3.1.2. Préparation des extraits

Les protéines sont extraites de plantules entières âgées d'une semaine. L'extraction se fait séparément pour chaque individu. Trente individus par population ont été traités.

Les plantules sont broyées, moyennant une pincée de sable de Fontainebleau, dans un tampon tris-HCl (0.2 M, pH 8.5) contenant 0.03% de 2-mercaptoéthanol, 6 mM de D.T.T. et 0.58 M de saccharose.

La quantité de tampon à mettre dépend du poids des plantules (250 µl de tampon pour 0.1 g de matériel frais). Les broyats sont centrifugés à 4°C pendant 60 mn. à 30000g.

3.1.3. Méthode électrophorétique

3.1.3.1. Séparation électrophorétique

Le "Phast system Separation and Control Unit" de Pharmacia a été utilisé pour la séparation des protéines. Il permet de traiter 16 individus à la fois. Pour cela, deux principaux types de gels sont utilisés : les phast-gel IEF et les phast-gel native-page qui sont tous deux des gels polyacrylamides. Pour les premiers, la séparation des protéines dépend de leurs points isoélectriques et dure 30 minutes, alors qu'en ce qui concerne les seconds, la séparation est basée sur le poids moléculaire des protéines et dure 60 minutes.

Les gels IEF ont été utilisés pour séparer les ADH (Alcool déshydrogénases), les MDH (Malate déshydrogénases), les ICD (Isocitrate déshydrogénases) et les POX (Peroxydases). Les gels native-page ont permis de séparer les PGI (Phosphoglucoisomérases), les PGM (Phosphoglucomutases), les EST (Estérases) et les GOT (Glutamate oxalo-acétate transaminases).

Les gels étant préalablement placés dans l'appareil, on dépose les extraits dessus, à l'aide de petits peignes spéciaux, introduits dans l'appareil au moment de la mise en route de la séparation.

3.1.3.2. Révélation des isoenzymes

La séparation électrophorétique terminée, on procède à la révélation des diverses enzymes. Pour cela, les gels sont déposés dans des solutions de révélation, correspondant à celles qui sont utilisées au laboratoire de recherches en physiologie végétale d'Angers et qui s'inspirent des travaux de TRIGUI et al. (1986). Le mode de préparation de ces solutions et la composition sont donnés en annexe 11.

3.1.3.3. Conservation des gels

Après révélation, les gels sont rincés à l'eau distillée, puis au méthanol et ensuite plongés, pendant 10 min., dans une solution d'acide acétique à 10% et de glycérol à 5%. Une fois sec, les gels sont placés dans des caches pour diapositives et peuvent être conservés ainsi pendant plusieurs mois.

3.2. RESULTATS

Il n'existe à notre connaissance, aucune étude sur la variabilité enzymatique ou le déterminisme génétique d'*Hedysarum pallidum* Desf.. Aussi, pour l'interprétation de nos résultats, nous avons suivi la méthode utilisée par LEFEBVRE et KAKES (1981). Celle-ci consiste à comparer la position relative des bandes électrophorétiques ou isoenzymatiques, les bandes de même mobilité étant considérées comme homologues, en se référant à une bande invariante, c'est-à-dire présente dans tous les individus.

Les bandes isoenzymatiques sont désignées par la lettre E, suivie d'un chiffre représentant la mobilité des bandes vers l'anode (fig.18); ainsi, la plus lente est désignée par E₁, la suivante par E₂, etc...

Des bandes électrophorétiques sont révélées pour tous les systèmes enzymatiques étudiés, sauf pour les Peroxydases, probablement en raison du matériel végétal, les plantules entières convenant moins bien dans certains cas, pour ce système enzymatique, selon TRIGUI et al. (1986), que les feuilles toutes seules.

Les fréquences (en %) des bandes isoenzymatiques des systèmes enzymatiques présentant un nombre relativement élevé de zymogrammes sont portées dans le tableau XIII.

3.2.1. Alcool déshydrogénase (ADH)

Pour cette enzyme, deux profils ou zymogrammes (combinaisons différentes des bandes) ont été obtenus : un profil à une seule bande et un autre à deux bandes (fig. 18). La bande E₂ est présente dans tous les individus des deux populations. La bande E₁ ne se trouve que dans 14% d'entre eux, mais avec une fréquence identique dans les deux populations.

3.2.2. Malate déshydrogénase (MDH)

Deux zymogrammes sont observés pour les MDH : un zymogramme à trois bandes et un autre à quatre bandes (fig. 19). Les bandes E₂, E₃ et E₄ sont présentes chez tous les individus des deux populations. La bande E₁ n'apparaît que pour 6.6 % des individus de la population témoin, alors qu'elle est présente pour 16.6 % de ceux de la population des déblais de mine. De ce fait, cette dernière population comporte une fréquence plus élevée du profil n°2 que la population normale, mais, une fréquence moins importante du profil n°1 que celle-ci.

migration des bandes
izoenzymatiques vers
l'anode

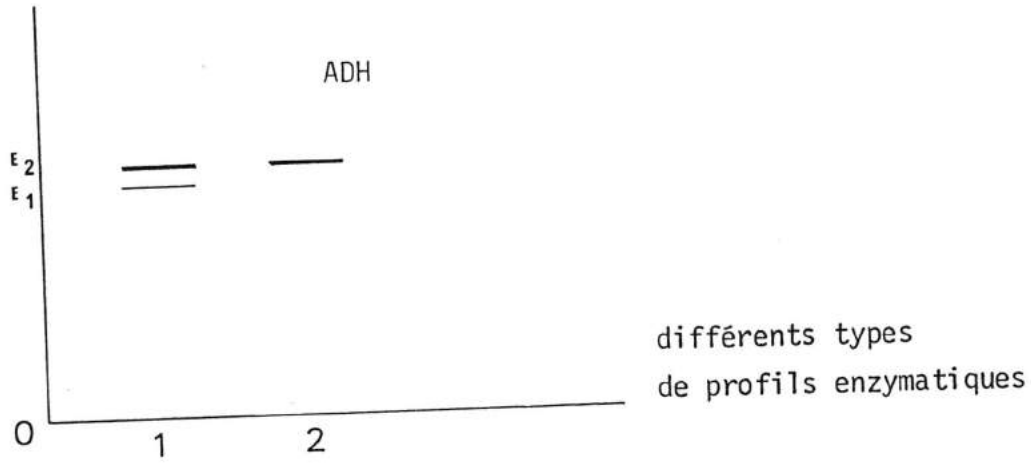


Fig. 18 - Représentation des deux types de zymogrammes des Alcohol-deshydrogénases (ADH) pour *Hedysarum pallidum* Desf.

migration des bandes
izoenzymatiques vers
l'anode

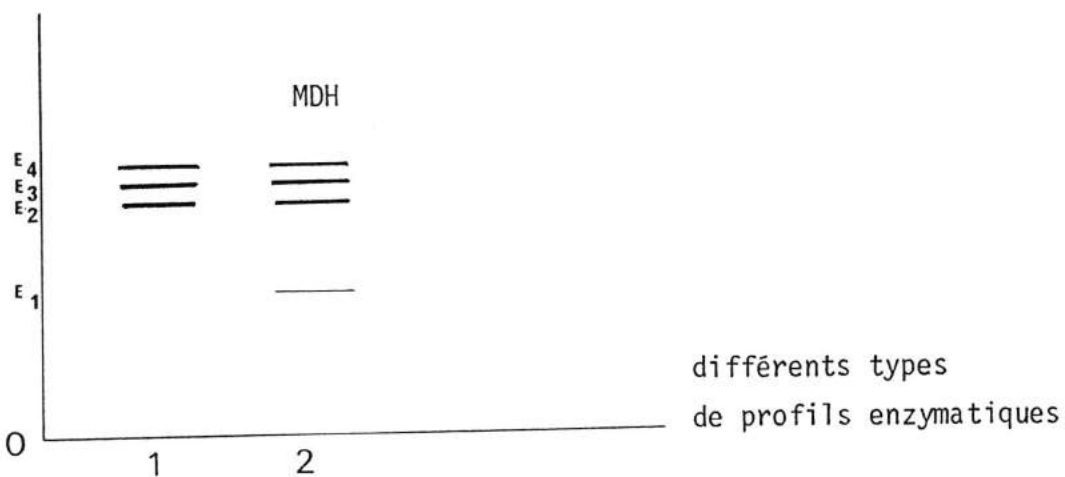


Fig. 19 - Représentation des deux types de zymogrammes des Malate-deshydrogénases (MDH) pour *Hedysarum pallidum* Desf.

Tableau XIII - Fréquences (en %) des bandes électrophorétiques des ICD, des GOT et des EST, dans deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf.

N°Bandes	ICD		GOT		EST	
	P ₁	P ₂	P ₁	P ₂	P ₁	P ₂
E ₁	100	100	3.3	0	20	6.6
E ₂	56.6	50	3.3	0	30	10
E ₃	23.3	56.6	93.3	100	26.6	56.6
E ₄	100	100	100	100	70	76.6
E ₅	3.3	0	0	6.6	100	100
E ₆			0	6.6	30	73.3
E ₇			6.6	3.3	96.6	100
E ₈					96.6	100

P₁ = Population des déblais de mine
P₂ = Population témoin

3.2.3. Isocitrate déshydrogénase (ICD)

Les différents zymogrammes mis en évidence pour cette enzyme, sont représentés sur la figure 20. Ils sont tous communs aux deux populations, sauf le profil n°5 qui n'apparaît que dans la population des déblais de mine, mais, avec une fréquence de 3% seulement.

L'étude du tableau XIII montre que, mises à part les bandes E₁ et E₄ présentes dans tous les zymogrammes des individus des deux populations, la fréquence de la bande E₂ dans la population des déblais de mine est très peu différente de celle de la population témoin. Par contre, on constate que la bande E₃ a une fréquence beaucoup plus élevée dans la population normale (56.6%) que dans la population des déblais de mine (23.3%) et que la bande E₅ n'est présente que dans cette dernière population.

3.2.4. Glutamate oxaloacétate transaminase (GOT)

Sept bandes peuvent être dénombrées pour les GOT, donnant naissance par leurs combinaisons à cinq zymogrammes différents (fig. 21). Seul le profil n°1 est commun aux deux populations. Il représente 90% des profils observés. Les zymogrammes n°2 et 3 n'apparaissent que dans la population des déblais de mine, alors que les n°4 et n°5 ne sont présents que dans la population témoin. Ceci est dû au fait que les bandes E₁ et E₂ ne sont présentes que dans la population des déblais de mine, avec une fréquence de 3.3% (tableau XIII), alors que les bandes E₅ et E₆ n'apparaissent que dans la population normale avec une fréquence de 6.6%. Par contre, on remarque dans le tableau XIII que, outre la bande E₄ invariante, la bande E₃ présente également une fréquence très élevée dans les deux populations. La bande E₇ ne montre pas de fréquence très différente d'une population à l'autre.

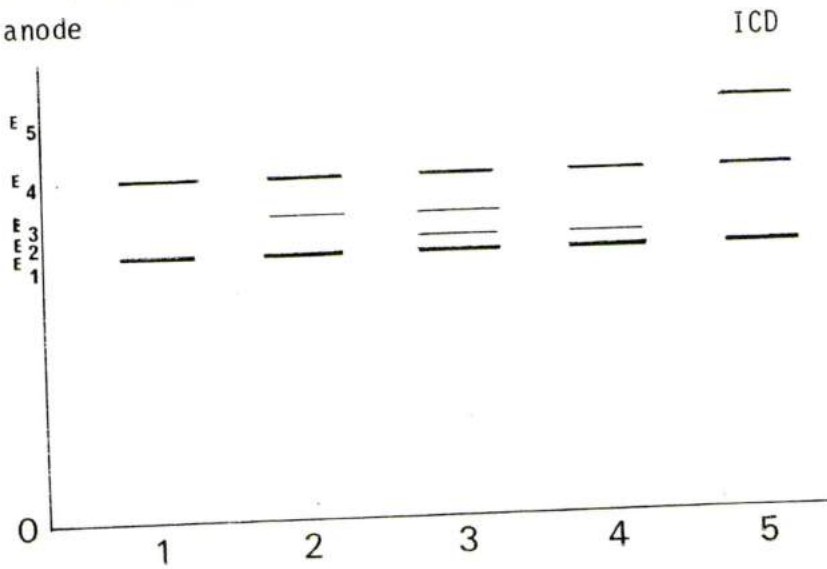
3.2.5. Phosphoglucomutase (PGM) et Phosphogluco-isomérase (PGI)

La révélation très médiocre de ces deux enzymes, mises en évidence sur les mêmes gels, et le chevauchement d'un grand nombre de bandes rend très difficile, voire impossible, l'exploitation des zymogrammes correspondants. Cette mauvaise révélation est probablement due au type de gels utilisés, polyacrylamides, qui ne doivent pas convenir pour ces deux enzymes.

3.2.6. Estérases (EST)

L'analyse des différents zymogrammes révélés pour cette enzyme, permet de dénombrer jusqu'à huit bandes pour les deux populations. Le nombre de bandes par individu varie de trois à

migration des bandes
izoenzymatiques vers
l'anode



différents types
de profils enzymatiques

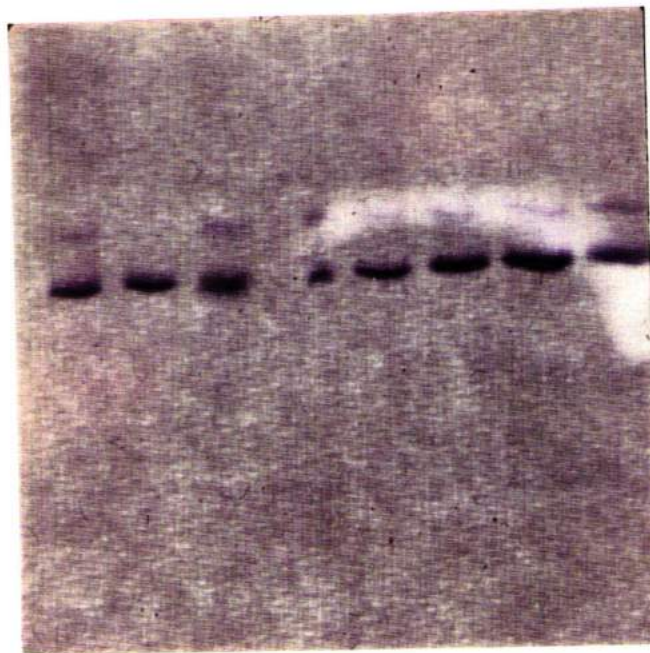


Fig. 20 - Représentation des cinq types de zymogrammes des Isocitrate-déshydrogénases, ICD, pour *Hedysarum pallidum* Desf.

migration des bandes
izoenzymatiques vers
l'anode

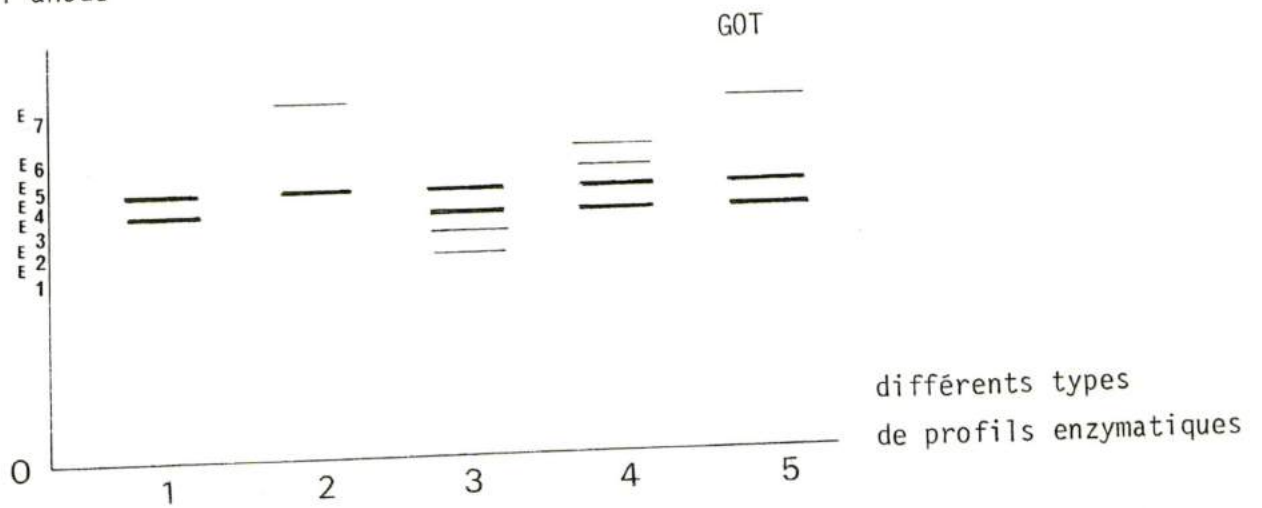
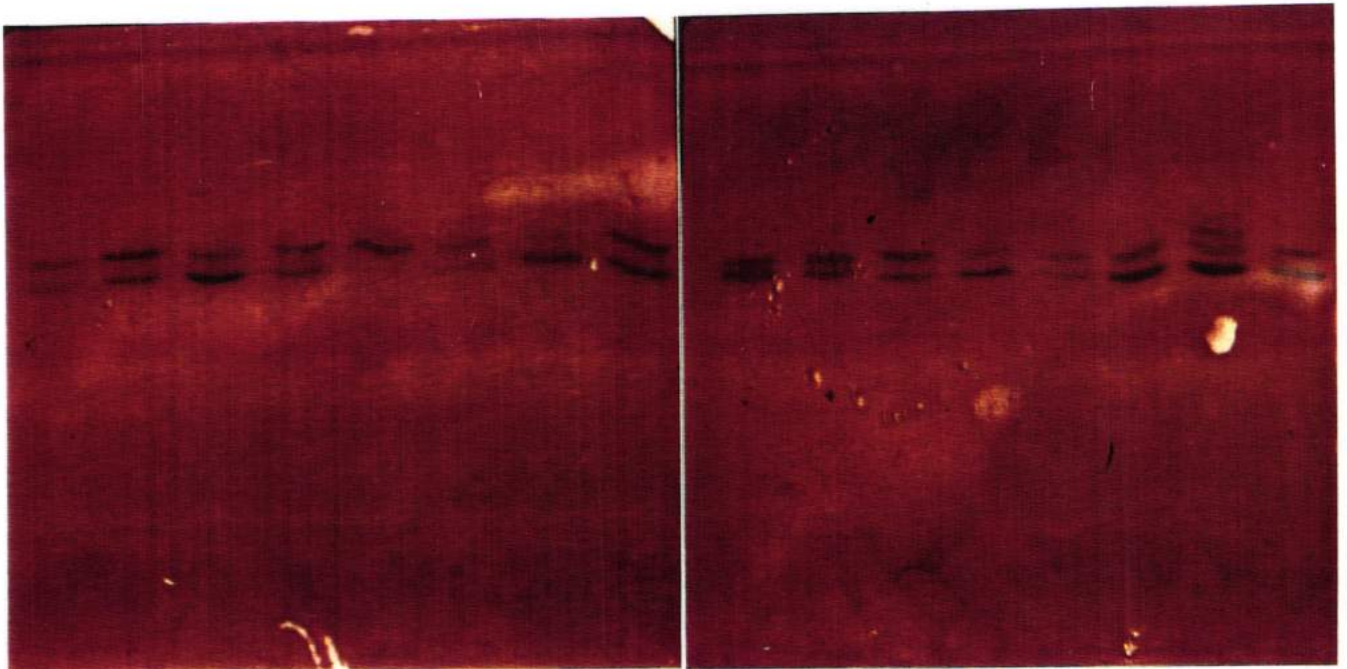


Fig. 21 - Représentation des cinq types de zymogrammes des Glutamate-oxaloacétate-transaminases, GOT, pour *Hedysarum pallidum* Desf.



sept, la plupart des individus ayant de quatre à six bandes.

Le nombre de zymogrammes est relativement élevé, il y en a douze (fig. 22), chaque population comportant neuf profils différents, dont six sont communs.

Plus de la moitié des individus de la population normale sont représentés par les zymogrammes n°1 et n°2, qui ne concernent d'ailleurs que 6% de la population des déblais de mine. En fait, 46% des individus de cette dernière ont montré les profils n°3 et n°4.

D'autre part, les profils n°6, n°8 et n°9 ne sont présents que dans la population normale, alors que les zymogrammes n°10, n°11 et n°12 ne le sont que dans la population des déblais de mine.

En fait, en étudiant le tableau XIII, on constate que les bandes E_8 et E_7 ont une fréquence très élevée dans les deux populations (96.6% et 100%) ne différant pratiquement pas de celle de la bande invariante E_5 . Par contre, on remarque que les bandes E_6 et E_3 sont beaucoup plus fréquentes pour la population normale, alors que les bandes E_1 et E_2 le sont beaucoup plus pour la population des déblais de mine.

3.3. DISCUSSION ET CONCLUSION

Il ressort tout d'abord de cette analyse, que les deux populations d'*Hedysarum pallidum* présentent, plus particulièrement avec les estérases, une assez importante variation électrophorétique. Ceci était en fait prévisible en raison de l'allogamie de l'espèce (cf. chap. IV, 1.3.).

Ainsi, la population des déblais de mine, malgré les conditions sévères de sélection, montre une variabilité enzymatique aussi importante que la population témoin. La même constatation a déjà été faite par LEFEBVRE et KAKES (1981) pour ce qui est de la variabilité électrophorétique et morphologique d'*Armeria maritima*. Cette grande variabilité enzymatique est en fait le garant de l'adaptabilité de l'espèce aux conditions de milieu variables. ceci explique vraisemblablement que certains individus aient pu coloniser des milieux nouveaux représentés par les déblais de mine.

D'autre part, bien que les deux populations présentent un grand nombre de bandes et de zymogrammes communs, des différences plus ou moins importantes apparaissent entre elles, au niveau de la fréquence et de la distribution de quelques bandes isoenzymatiques, avec la plupart des systèmes enzymatiques étudiés.

migration des bandes
izoenzymatique vers
l'anode

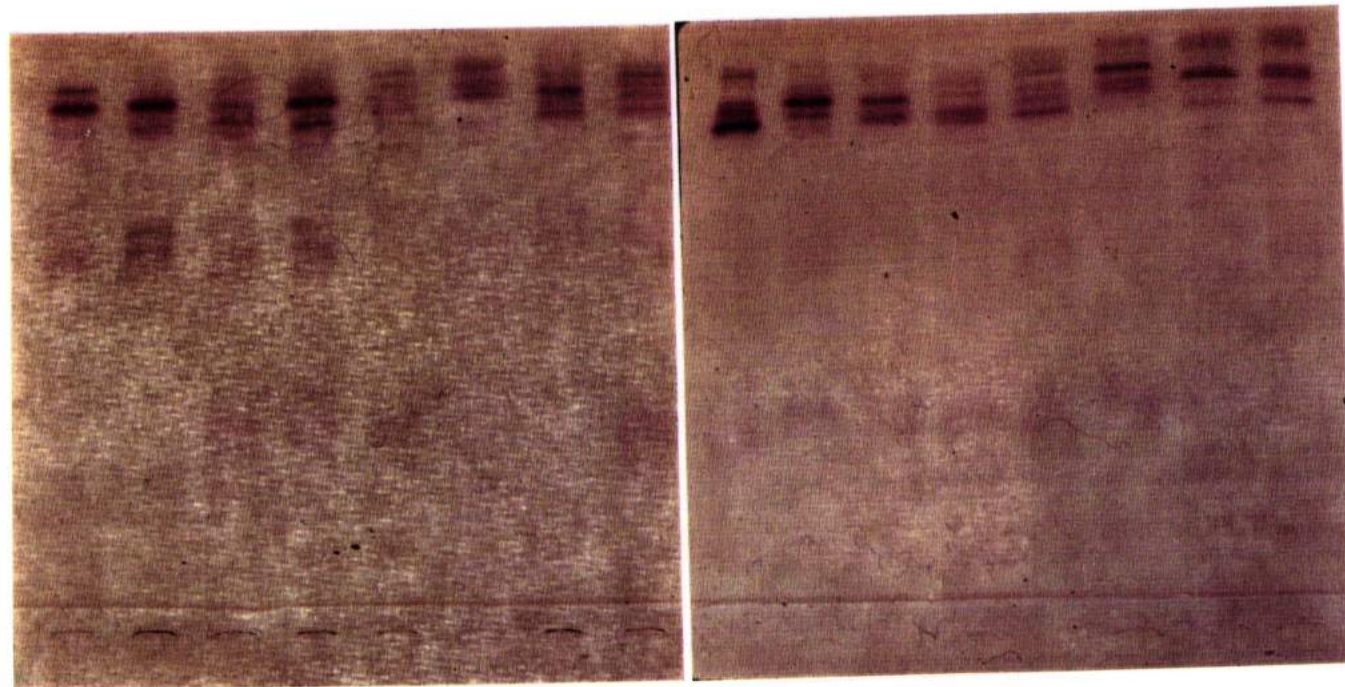
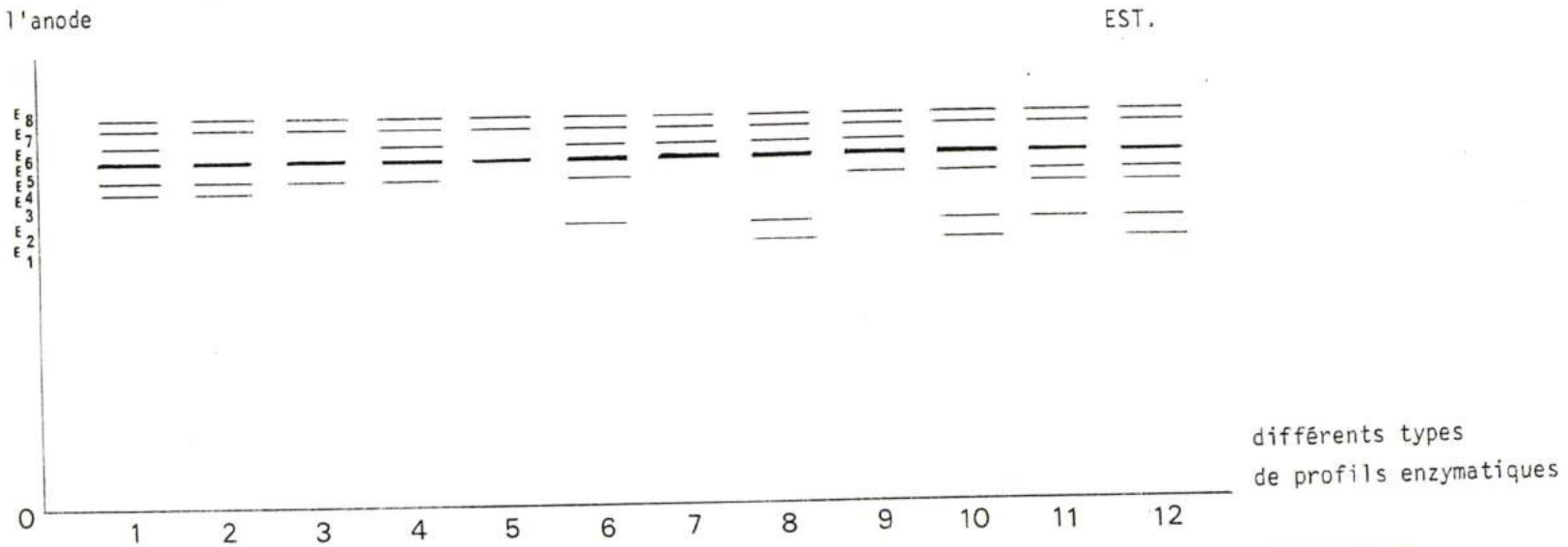


Fig. 22 - Représentation des douze types de zymogrammes des Estérases, EST, pour *Hedysarum pallidum* Desf.

Ainsi, certaines bandes ne sont présentes que dans la population des déblais de mine, ou y ont une plus forte fréquence, alors que d'autres bandes n'apparaissent que dans la population témoin, ou y sont plus fréquentes. Ceci est par conséquent, également vrai pour les zymogrammes, et concerne en particulier, les MDH, les ICD, les GOT et les EST.

Il semble donc qu'il y ait comme une disparition progressive ou même définitive de certaines bandes dans la population des déblais de mine. Celles-ci seraient remplacées par l'apparition progressive d'autres bandes, inexistantes dans la population témoin ou dont la fréquence y est plus faible.

Cependant, il serait peut-être trop prématuré et hasardeux de vouloir attribuer ces disparitions ou apparitions de bandes à l'action sélective ou évolutive de la toxicité du milieu. En effet, il serait nécessaire pour confirmer de telles hypothèses, d'analyser des échantillons plus importants et d'autres populations de la même espèce. Ces résultats ne constituent en fait, qu'une étape préliminaire pour d'autres recherches dans cette voie.

CONCLUSIONS GENERALES

L'étude phytosociologique a permis de mettre en évidence l'existence de trois groupes de relevés :

-le groupe I qui peut être rattaché à la classe des *Cisto-Rosmarinetea* Rivas-Goday (1964);

-le groupe II qui peut être rapporté à la classe des *Thero-Brachypodietea* Br.-Bl. 1947 et à ses syntaxons subordonnés, l'*Asterico maritimi Convolvuletum lineati* étant l'association, décrite par Guinochet (1977), à laquelle ce groupe peut être rattaché.

-le groupe III qui peut être relié à la classe des *Stellarietea mediae* (Br.-Bl. 1931) Lohm., Preisg. et Tx. 1950 p.p. et ses syntaxons subordonnés, et à la classe des *Thero-Brachypodietea* Br.-Bl. 1947 et ses syntaxons subordonnés.

La comparaison de la composition floristique des trois groupes de relevés phytosociologiques et de quelques relevés marginaux, entre eux et par rapport aux teneurs en antimoine des sols de leurs stations ont permis de faire apparaître que les espèces végétales présentent des comportements différents en présence d'antimoine dans le substrat : toxicophobes ou sensibles aux plus fortes teneurs, toxicophytes ou résistantes au toxique et indifférentes c'est-à-dire acceptant des taux variables du toxique.

Il apparaît que pour chaque groupement végétal, il existe sur la zone étudiée, toute une gamme de concentrations en antimoine allant des teneurs anormalement élevées jusqu'à des taux quasi normaux pour des sols non minéralisés.

(La présence d'antimoine dans le substrat opère une sélection sévère sur les divers groupements végétaux installés sur la zone, ce qui aboutit à l'élimination des espèces les moins résistantes et plus particulièrement à une diminution des espèces caractéristiques. Les termes ultimes sont sans conteste, situés soit immédiatement sous les sorties des mines, soit au bas de la pente sur les bords d'oueds.)

(On remarque, en outre, que les Dicotylédones ont un comportement différent des Monocotylédones vis-à-vis du toxique. En effet, il y a un plus grand nombre d'espèces Monocotylédones sur les sols à forte concentration en antimoine que sur les sols

à faible concentration. Les espèces Dicotylédones sont par contre plus nombreuses sur les substrats pauvres en antimoine.)

(Les analyses des feuilles de quelques plantes prélevées aux emplacements mêmes des relevés, font apparaître, pour certaines espèces, des teneurs en antimoine exceptionnellement élevées, d'un ordre de grandeur totalement différent de la normale et même très supérieur à celui qui est enregistré dans les plantes d'autres régions minières du monde, polluées par ce toxique.)

(La spécificité végétale joue un rôle important dans la tolérance vis-à-vis de l'antimoine. Ainsi, les espèces végétales analysées présentent divers modes de résistance :

-exclusion : *Ampelodesma mauritanica* (Poiret) Dur. et Schleche, *Lygeum spartum* L., *Stipa parviflora* Desf., *Dactylis glomerata* L., *Stipa tenacissima* L.;

-accumulation : *Hedysarum pallidum* Desf. *Limonium ramosissimum* (Poiret) Maire, *Plantago coronopus* L., *Thymus algeriensis* B. et R., *Artemisia herba-alba* Asso;

-concentration : *Carduncellus pinnatus* (Desf.) DC., *Centaurea incana* Desf. ssp. *pubescens* (Willd.) Maire, *Asperula hirsuta* L., *Convolvulus lineatus* L. et *Atractylis cancellata* L.

Les rapports d'accumulation de quelques unes de ces espèces font apparaître que celles-ci cessent de se comporter en accumulatrices lorsque la teneur en antimoine dans le sol augmente; cette limite se situant entre 20 et 40 p.p.m. d'antimoine assimilable.

Par ailleurs, il apparaît, de même que cela a été observé en phytosociologie, que les Monocotylédones se comportent différemment des Dicotylédones en présence d'antimoine dans le milieu; elles ont, en effet, tendance à tolérer beaucoup moins le toxique dans leurs parties aériennes.)

Les résultats des tests expérimentaux réalisés sur deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf., montrent que la population se développant sur des déblais de mine est plus adaptée à la présence d'antimoine dans le milieu que la population provenant d'un sol normal. Cette adaptation se traduit significativement par une meilleure croissance en milieu très contaminé, de la population des déblais de mine qui présente d'ailleurs un indice de tolérance à 40 p.p.m. de Sb dans le milieu, beaucoup plus élevé (70%) que celui de la population normale (20%). (L'antimoine est également beaucoup plus phytotoxique chez cette dernière que chez la population des déblais de mine.)

(Le stress provoqué en grande partie par la présence

d'antimoine, est vraisemblablement à l'origine de l'apparition de bourgeons adventifs sur les collets et les cotylédons de plusieurs individus des deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf.. Ces bourgeons, inexistant dans la nature, sont moins nombreux dans la population des déblais de mine qui, plus adaptée à la toxicité de l'antimoine est donc moins stressée en sa présence.

L'étude histologique des cotylédons présentant des bourgeons adventifs fait apparaître de nombreuses structures faisant penser à des embryons somatiques à différents stades de développement. Elle met également en évidence de nombreuses zones de dédifférenciation cellulaire avec un rapport nucléocytoplasmique élevé et une activité mitotique intense ainsi que des recloisonnement de cellules périvasculaires.

Le dosage de l'antimoine fait apparaître des teneurs très élevées de cet élément dans la biomasse aérienne des deux populations d'*Hedysarum pallidum* testées. Elles atteignent, avec 40 p.p.m. de Sb dans le milieu de culture, 1000 à 1000.10⁷ fois les teneurs considérées comme normales dans le milieu naturel.

Les rapports d'accumulation des deux populations mettent en évidence l'adaptation de la population des déblais de mine qui se manifeste par une réduction de l'absorption du toxique dès que celui-ci atteint une forte concentration dans le milieu, c'est-à-dire dès 20 p.p.m. d'antimoine.

C'est aussi dans cette population des déblais de mine que nous avons pu observer une variabilité chromosomique importante qui semble augmenter avec la mise en culture *in vitro* en présence de plus de 20 p.p.m. d'antimoine

La présence d'un certain nombre d'individus très résistants dans la population normale rend évidente l'existence d'un flux de gènes entre les deux populations, dû non seulement à la proximité de celles-ci, mais aussi à l'allogamie de l'espèce. Celle-ci a pu être démontrée par l'inexistence de fleurs fécondées dans les tiges florifères préalablement ensachées sur le terrain. Les fleurs non fécondées comportent 90% de grains de pollen viables.

Les analyses enzymatiques font apparaître une importante variation électrophorétique, liée également à l'allogamie de l'espèce, chez les deux populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. Des différences apparaissent entre celles-ci, dans la distribution et les fréquences de certaines bandes isoenzymatiques, qui ne se retrouvent que dans l'une ou l'autre des deux populations ou y présentent des fréquences très différentes.

Les résultats des tests expérimentaux et des analyses enzymatiques laissent supposer une différenciation des deux populations et donc une évolution de races tolérantes ou écotypes parmi les populations d'*Hedysarum pallidum* Desf. D'autres expérimentations sont cependant, nécessaires pour confirmer une telle hypothèse.

La présence d'antimoine dans le Djebel Hamimat a donc entraîné effectivement des perturbations au sein de la végétation, se traduisant non seulement par son appauvrissement, mais aussi par la naissance très probable de races ou écotypes résistants parmi les populations de certaines espèces végétales, plus particulièrement *Hedysarum pallidum* Desf.. L'utilisation de ces écotypes est tout à fait envisageable pour la colonisation des déblais de mine sans végétation, de la même région ou d'autres régions antimonieuses. Cependant, dans une région pastorale telle que celle du Djebel Hamimat, une espèce accumulatrice ne présente pas un grand intérêt économique. Aussi, la sélection d'individus résistants non accumulateurs, par le biais de cultures *in vitro*, s'avèrerait nécessaire.

BIBLIOGRAPHIE

ABDEL-DAIM M.H., S.M. EL SEWEDY, F.S. KELADA et G.A. ABDEL-TAWAB, 1969.- *In vivo* effects of tartar emetic on tryptophan metabolism in patients with schistosomiasis, *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 63 (6), 859-866.

ABDELGUERFI-BERREKIA R., 1985.- Contribution à l'étude du genre *Hedysarum* L. en Algérie. Thèse de Magister en Sciences Agronomiques, Option Phytotechnie, 131 p.

ABDELGUERFI-BERREKIA R., ABDELGUERFI A., BOUNAGA N. et GUITTONNEAU G., 1986.- Chromosome number reports XC. *Taxon*, 35 (1), 197.

ABDELGUERFI-BERREKIA R., ABDELGUERFI A., BOUNAGA N. et GUITTONNEAU G., 1988.- Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Hedysarum* L. en Algérie, III dénombrements chromosomiques chez 29 populations de 8 espèces. *Ann. Inst. Nat. Agro. El-Harrach*, 12 (1), 233-247.

AID A., 1991.- Régénération de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.) par culture de tissus foliaires et d'entre-noeuds. Evolution du métabolisme azoté au cours d'une recherche préliminaire de l'embryogénèse somatique. Thèse de l'Université d'Angers, 1 vol. multigr., 186 p.

AIDOUUD-LOUNIS F., 1984.- Contribution à la connaissance des groupements à sparte (*Lygeum spartum* L.) des hauts plateaux Sud oranais. Etude phytoécologique et syntaxonomique. Thèse de 3ème cycle, 250 p. et annexes, U.S.T.H.B., Alger.

ALEXANDER M.P., 1969.- Differential staining of aborted and nonaborted pollen. *Stain Technology*, 44(3), 117-122.

ALLARD R.W. and A.L. KAHLER, 1971.- Allozyme polymorphism in plant populations. *Stadler Symposia*, 3, 1-17.

AMIARD J-C., 1973.- *Etude expérimentale de l'accumulation de l'antimoine 125 par divers groupes d'organismes marins*. Rapport CEA-R-4530, centre de la Hague, département de protection, service de recherches toxicologiques et écologiques, laboratoire de radioécologie marine, 13 p.

ANTONOVICS J., 1966.- *The genetics and evolution of differences between closely adjacent plant populations with special reference to heavy metal tolerance*. Ph.D. Thesis, University of Wales.

ANTONOVICS J., A.D. BRADSHAW and R.G. TURNER, 1971.- Heavy metal tolerance in plants. *Adv. Ecol. Res.*, 7, 1-85.

- ARCIONI S., D. MARIOTTI and M. PEZZOTTI, 1985.- *Hedysarum coronarium* L. *in vitro* conditions for plant regeneration from protoplast and callus of various explants. *J. Plant Physiol.*, 121, 141-148.
- BAATOUT H., D. COMBES and M. MARRAKCHI, 1991a.- Reproductive system and population structure in two *Hedysarum* subspecies. I. Genetic variation within and between populations. *Genome*, 34, 396-406.
- BAATOUT H., M. MARRAKCHI and D. COMBES, 1991b.- Genetic divergence and allozyme variation within and among populations of *Hedysarum spinosissimum* subsp. *capitatum* and subsp. *spinosissimum* (Papilionaceae). *Taxon*, 40, 239-252.
- BAATOUT H., M. MARRAKCHI and J. PERNES, 1990.- Electrophoretic studies of genetic variation in natural populations of allogamous *Hedysarum capitatum* and autogamous *Hedysarum euspinosissimum*. *Plant Science*, 69, 49-64.
- BAKER A.J.M., 1978.- Ecophysiological aspects of zinc tolerance in *Silene maritima* With.. *New Phytologist*, 80, 635-642.
- BAKER A.J.M., 1987.- Metal tolerance. *New Phytol.*, 106, 93-111.
- BALL E., 1950.- Differentiation in a callus culture of *Sequoia sempervirens*. *Growth*, 14, 295-325.
- BAUMEISTER W., 1967.- Schwermetall-Pflanzengesellschaften und Zinkresistenz einiger Schwermetallpflanzen. *Angew. Bot.*, 40, 185-204.
- BAYLISS M.W., 1980.- Chromosomal variation in plant tissues in culture. *Int. Rev. Cytol. Suppl.*, 11, 113-144.
- BEALE P.E., A. LAHLOU and M. BOUNEJMATE, 1991.- Distribution of wild annual legume species in Morocco and relationship with soil and climatic factors. *Aust. J. Agric. Res.*, 42, 1217-1230.
- BENZECRI J.P., 1966.- *Leçons sur l'analyse factorielle et la reconnaissance des formes*. Cours multigr., Inst. Statist. Univ. Paris.
- BENZECRI J.P., et collaborateurs, 1976.- *L'analyse des données*. Vol. I, La taxinomie, 631 p., Dunod, Paris.
- BOISSON M. et H. NEYBERGH, 1977.- Localisation structurale des gîtes d'antimoine du Djebel Hamimat (Sud-est du constantinois, Algérie). *C.R.Acad.Sc.*, 284, série D, Paris, 409-412.
- BOTHOREL P., 1958.- Antimoine, 495-664. In PASCAL P., *Nouveau traité de chimie minérale*, tome XI. Masson, Paris, 850 p.
- BOUKHRIS M., 1967.- Sur l'écologie et la nutrition des végétaux croissant sur dolomie dans le sud de la France. *Thèse de Doct. de spécialité*, 1 vol. multigr., 104 p., Univ. de Montpellier.

- BRADSHAW A.D., J. ANTONOVICS, M.S. KHAN and K. WALLEY, 1969.- The importance of extreme selection pressures in evolution. *Int. Bot. Cong. XI Seattle, Abstracts*, p. 21.
- BRADSHAW A.D., T.S. McNEILLY and R.P.G. GREGORY, 1965.- Industrialisation evolution and the development of heavy metal tolerance in plants, 327-343. In "*Ecology and the industrial Society*", *Brit. Ecol. Soc. Symp.*, 5.
- CANON H.L., 1960.- Botanical prospecting for ore deposits. *Science, N.Y.*, 132, 591-598.
- CENNI B., G. JANNELLA and N. COLOMBANI, 1968.- Chemical composition digestibility and nutritive value of sulla (*Hedysarum coronarium* L.) high produced in Volterra district. *Ann. Fac. Med. Vet. Univ. Pisa*, 20, 155-168.
- CHARRIN V., 1932.- Les gîtes d'antimoine en France, leur association fréquente avec l'or. *Le Génie Civil*, 100 (13), 314-317.
- CHRIKI A., 1990.- Contrôle génétique de l'hydroxylation en 5' des anthocyanes dans les fleurs d'*Hedysarum coronarium* L. et *H. capitatum* Desf., *Asch et Gr. Agronomie*, 10, 533-540.
- CLEGG M.T. and R.W. ALLARD, 1972.- Patterns of genetic differentiation in the slender wild oat species *Avena barbata*. *Proc. Nat. Acad. Sc. U.S.A.*, 69, 1820-1824.
- COMBES D., H. ESPAGNAC and J. FIGIER, 1975.- Etude de populations naturelles d'*Hedysarum coronarium* L. du Nord de la Tunisie. *Bull. Soc. Hist. nat. Afrique N.*, 66, 107-122.
- COOPER J.A., 1968.- Trace elements variations in Silver Salmon and King Salmon muscles tissues. *BNWL-715*, part 2, 42-47.
- CORDIER B., 1965.- Sur l'analyse factorielle des correspondances. *Thèse Doct. 3ème cycle*, Univ. Rennes, 1 vol. multigr., 66p.
- COTTENIE A. et R. CAMERLYNK, 1983.- Specific behaviour of some Monocotyledon and Dicotyledon species with regards to excess of trace elements, 43-49. In COTTENIE A., *Trace Elements in agriculture and in the Environment*, 2e ed., Cottenie, Gand, 73 p.
- COTTENIE A., R. CAMERLYNK, M. VERLOO et A. DHAESE, 1979a.- Fractionation of trace elements in plants, soils and sediments. *Pure Appl. chem.*, 52, 45-53.
- COTTENIE A., M. VERLOO, L. KIEKENS, R. CAMERLINCK, G. VELGHE and A. DHAESE, 1979b.- Essential and non-essential trace elements in the system soil-water-plant. *Lab. anal. agrochemistry*, R.U.G., Gand, 75 p.
- COTTENIE A., M. VERLOO, G. VELGHE et L. KIEKENS, 1979c.- Analytical methods for plants and soils. *Lab. Anal. Agrochemistry*, R.U.G., Gand, 39 p.

- CUTTER E.G., 1971.- *Plant Anatomy : Experiment and Interpretation*. Part 2. Edward Arnold ed., 343 p.
- DAVIS R.D., P.H.T. BECKETT and E. WOLLAN, 1978.- Critical levels of twenty potentially toxic elements in young spring Barley. *Plant and Soil*, 49, 395-408.
- DENAEYER-DE SMET S., 1974.- Premier aperçu de la distribution du cadmium dans divers écosystèmes terrestres non pollués et pollués. *Oecol. Plant.*, 9(2), 169-182.
- DUVIGNEAUD P., 1959.- Plantes "cobaltophytes" dans le haut Katanga, *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.*, 91, 111-134.
- DUVIGNEAUD P. et S. DENAEYER-DE SMET, 1960.- Action de certains métaux lourds du sol (cuivre, cobalt, manganèse, uranium) sur la végétation dans le Haut Katanga. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, mem. sur rapports du sol et de la végétation (Viennot-Bourgin), 119-139, Masson. Paris.
- DUVIGNEAUD P. et S. DENAEYER-DE SMET, 1963.- Cuivre et végétation au Katanga. *Bull. Soc. r. Bot. Belg.*, 93, 93-231.
- DUVIGNEAUD P. et S. DENAEYER-DE SMET, 1973.- Considérations sur l'écologie de la nutrition minérale des tapis végétaux naturels, *Oecol. Plant.*, 8(3), 219-246.
- ERNST W., 1965.- Okologische-soziologische Untersuchungen der Schwermetall-Pflanzengesellschaften Mitteleuropas unter Einschluss der Alpen. *Abh. Landesmus. Naturk. Munster*, 27(1), 54 p.
- ERNST W., 1966.- Okologisch-soziologische Untersuchungen auf Schwermetallpflanzengesellschaften Südfrankreiches und desöstlichen Harzvorlandes. *Flora, Jena, B.*, 156, 301-318.
- ERNST W., 1968a.- Das Violetum calaminariae westfalicum, eine Schwermetallpflanzengesellschaft beim Blankenrode in Westfalen. *Mitt. flor.-soz. Arbgemein.*, 13, 263-268.
- ERNST W., 1968b.- Okologische Untersuchungen auf Pflanzengesellschaften unterschiedlich gestorter schwermetallreicher Boden in Grossbritannien. *Flora, Jena, B.*, 158, 95-106.
- ERNST W., 1968c.- Zur Kenntnis der Soziologie und Ökologie der Schwermetallvegetation Grossbritanniens. *Ber. dt. bot. Ges.*, 81, 116-124.
- ERNST W.H.O., 1990.- Mine vegetation in Europe, 21-37. In SHAW A.J., *Heavy metal tolerance in plants : Evolutionary Aspects*, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, 355 p.
- EVANS D.W., J.G. WIENER and J.H. HORTON, 1980.- Trace element inputs from a coal burning power plant to adjacent terrestrial and aquatic environments. *Air Poll. Control Ass. Jour.*, 30(5), 567-573.

- EVANS W.H., F.J. JACKSON and D. DELLAR, 1979.- Evaluation of a method for determination of total antimony, arsenic and tin in foodstuffs using measurement by atomic absorption spectrophotometry with atomisation in silica tube using the hybride generation technique. *Analyst*, 104, 16-34.
- FIGIER J., H. ESPAGNAC, D. COMBES and G. FRANCILLON, 1978.- Mise en évidence de types morphologiques dans les populations naturelles de l'*Hedysarum coronarium* L. de Tunisie par analyse multivariable. *Rev. Gen. Bot.*, 85, 21-62.
- FRANK R., K.I. STONEFIELD and P. SUDA, 1985.- Background elemental content of animal feeds, Ontario, Canada, 1978-82. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 35, 689-695.
- FURR A.K., W.C. GUTENMANN and D.J. LISK, 1976.- Multielement uptake by vegetables and Millet grown in pots on fly ash amended soil. *J. Agric. Food chem.*, 24(4), 885-888.
- FUZAILOV YU.M. et A.K. KHAMIDOV, 1983.- Accumulation of antimony by plants under extremes conditions. *UZB. Biol. Zh.*, 0(5), 25-26.
- FUZAILOV YU.A. et YU. MADRAKHIMOV, 1982.- Some indicators of the lipidogram in virus hepatitis patients under the conditions of the antimony subregion of the Fergana valley. *Vopr pitan.*, 0(6), 39-43.
- GAUTHERET R.J., 1959.- *La culture des tissus végétaux. Techniques et réalisations.* Masson ed., Paris, 863 p.
- GREGORY R.P.G. and A.D. BRADSHAW, 1965.- Heavy metal tolerance in populations of *Agrostis tenuis* Sibth. and other grasses. *New Phytol.*, 64, 131-143.
- GREUTER W., H.M. BURDET et C. LONG, 1989.- *Med-Checklist Dicotylédones (Lauraceae-Rhamnaceae).* Ed. Conservatoire et Jard. Bot. ville de Genève, vol. 4, 458 p.
- GROSSER J.W. and G.B. COLLINS, 1984.- Isolation and culture of *Trifolium rubens* protoplasts with whole plant regeneration. *Plant Science Letters*, 37, 165-170.
- GUINOCHET M., 1977.- Contribution à la synsystème des pelouses thérophytiques du nord de la Tunisie et de l'Algérie. *Coll. Phytosociologiques*, VI, les pelouses sèches, 1-21, Lille.
- GUINOCHET M., 1980.- Essais sur quelques syntaxons des *Cisto-Rosmarinetea* et des *Quercetea illicis* d'Algérie et de Tunisie. *Phytocoenologia*, 7, 436-466.
- HACKSPILL L., J. BESSON et A. HEROLD, 1964.- *Chimie minérale*, tome I. Presses Universitaires de France, Paris, 687-706.
- HAGUENOER J.M. et D. FURON, 1982.- *Toxicologie et hygiène industrielles*, tome II, les dérivés minéraux, 2^o partie. Technique et documentation, Paris, 659 p.

- HAMMOND C.R., 1978.- The elements, B5-B60. In WEAST R.C., *CRC Handbook of chemistry and physics*, 58 th edition, CRC Press Inc., U.S.A.
- HAMRICK J.L. and R.W. ALLARD, 1972.- Microgeographical variation in allozyme frequencies in *Avena barbata*. *Proc. Nat. Acad. Sc. U.S.A.*, 69, 2100-2104.
- HARA T., Y. SONODA and I. IWAI, 1977.- Growth response of cabbage plants to arsenic and antimony under water culture conditions. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 23, 253-255.
- HARINI I. and G. LAKSHMI SITA, 1993.- Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of chili (*Capsicum annuum* L.). *Plant Science*, 89, 107-112.
- HAWLEY G.G., 1977.- *The condensed chemical dictionary*. 9 th edition, Van Nostrand Reinhold Company, 891 p.
- HEIMANS J., 1936.- De Merkomst van de Zinkflora aan de Geul. *Ned. Kruidk. Archf.*, 46, 778-897.
- HELLER R., 1954.- Les besoins minéraux des tissus en culture. *Ann. Biol.*, 30, 261-281.
- HUSSEY G. and H.V. GUNN, 1984.- Plant production in pea (*Pea sativum* L. cvs. PUGET and UPTON) from long-term callus with superficial meristems. *Plant Science Letters*, 37, 143-148.
- JAFFRE T., 1979.- Accumulation du manganèse par les protéacées de Nouvelle-Calédonie. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 289, série D, 425-428.
- JAFFRE T. et M. SCHMID, 1974.- Accumulation du nickel par une rubiacée de Nouvelle-Calédonie, *Psychotria douarrei* (G. Beauvisage) Däniker. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 278, série D, 1727-1730.
- JAHANDIEZ E. et R. MAIRE, 1932.- *Catalogue des plantes du Maroc (Spermatophytes et Ptéridophytes)*. Tome II, Lechevalier, Paris, 557 p.
- JAIN S.K. and A.D. BRADSHAW, 1966.- Evolutionary divergence among adjacent plant populations. I. The evidence and its theoretical analysis. *Heredity, Lond.*, 21, 407-441.
- JOHNSON L.B., D.L. STUTEVILLE, R.K. HIGGINS and D.Z. SKINNER, 1981.- Regeneration of alfalfa plants from protoplasts of selected regen's clones. *Plant Science Letters*, 20, 297-304.
- JONES O.T., 1922.- Lead and zinc : the mining district of North Cardiganshire and West Montgomeryshire. *Mem. geol. Surv. spec. Rep. Miner. Resour. Gt. Br.*, XX, 207p.
- JOWETT D., 1958.- Populations of *Agrostis* spp. tolerant to heavy metals. *Nature, Lond.*, 182, 816-817.

- JOWETT D., 1964.- Population studies on lead tolerant *Agrostis tenuis*. *Evolution*, Lancaster, Pa., 18, 70-80.
- KADIK B., 1987.- *Contribution à l'étude du pin d'Alep (Pinus halepensis Mill.) en Algérie : écologie, dendrométrie, morphologie*. O.P.U., Alger, 581 p.
- KARATAGLIS S.S., 1980.- Gene flow in *Agrostis tenuis* (Poaceae). *Pl. Syst. Evol.*, 134, 23-31.
- KARATAGLIS S.S., T. McNEILLY and A.D. BRADSHAW, 1986.- Lead and zinc tolerance of *Agrostis capillaris* L. and *Festuca rubra* L. across a mine-pasture boundary at Minera, North Wales. *Phyton (Austria)*, 26(1), 65-72.
- KOCH K., 1932.- Die Vegetationsverhältnisse des Silberberges im Huggelgebiet bei Osnabruck. *Wissenschaftliche Arbeiten des Bezirkskomitees für Naturdenkmalpflege und Heimatschutz in Osnabruck*, 1, 91-115.
- LAKHOUA L., 1983.- Production, culture and callus formation from leaf protoplasts of *Hedysarum coronarium* L., 36-37. In POTRYKUS I., C.T. HARMS, A. HINNER, R. HUTTER, P.J. KING and R.D. SHILLITO, *Protoplasts 1983, Poster proceedings*. Birkhäuser, Verlag, Basel, Boston, Stuttgart.
- LAKSHMISITA G., N.V. RAGHAVARAM and C.S. VAIDYANATHAN, 1980.- Triploid plants from endosperm cultures of sandalwood by experimental embryogenesis. *Plant Science Letters*, 20, 63-69.
- LANGERON M., 1942.- *Précis de microscopie*. Masson et cie ed., 6^{ème}, 1340 p.
- LEDUC C. et C. GARDOU, 1992.- Prospection biogéochimique de l'antimoine : résultats d'un test sur le gisement des Brouzils (Vendée). *Bull. Soc. bot. Fr.*, 139, *Actual. bot.* (1), 123-131.
- LEFEBVRE C. et P. KAKES, 1981.- Variation électrophorétique des estérases des feuilles d'*Armeria maritima* (Mill.) Willd. : quelques aspects taxonomiques et évolutifs. *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.*, 114, 31-40.
- LEFEBVRE C. and P. VERNET, 1990.- Microevolutionary processes on contaminated deposits, 285-299. In SHAW A.J., *Heavy metal tolerance in plants : Evolutionary Aspects*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 355 p.
- LEVINSON A.A., 1974.- *Introduction to exploration geochemistry*. Applied publishing Ltd., Maywood, Illinois, 614 p.
- LISK D.J., 1972.- Trace elements in soils, plants and animals. *Adv. Agron.*, 24, 267-325.
- LINWU and A.L. KRUCKEBERG, 1985.- Copper tolerance in two legume species from a copper mine habitat. *New Phytol.*, 99, 565-570.

- MACNAIR M.R., 1990.- The genetics of metal tolerance in natural populations, 235-253. In SHAW A.J., *Heavy Metal Tolerance in Plants : Evolutionary aspects*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- MACNICOL R.D. and P.H.T. BECKETT, 1985.- Critical tissue concentration of potentially toxic elements. *Plant and soil*, 85, 107-129.
- MANKOVSKA B., 1986.- Accumulation of As, Sb, S and Pb in soil and Pine Forest. *Ecology (CSSR)*, 5(1), 71-79.
- MANUILA A., L. MANUILA, M. NICOLE et H. LAMBERT, 1981.- *Dictionnaire français de médecine et de biologie*. Masson, Paris, 1193 p.
- MARIOTTI D., S. ARCIONI and M. PEZZOTTI, 1984.- Regeneration of *Medicago arborea* L., Plants from tissue and protoplasts of different organ origin. *Plant Science Letters*, 37, 149-156.
- MARKERT B., 1992.- Presence and significance of naturally occurring chemical elements of the periodic system in the plant organism and consequences for future investigations on inorganic environmental chemistry in ecosystems. *Vegetatio*, 103, 1-30.
- McNAUGHTON S.J., T.C. FOLSOM, T. LEE, F. PARK, C. PRICE, D. ROEDER, J. SCHMITZ and C. STOCKWELL, 1974.- Heavy metal tolerance in *Typha latifolia* without the evolution of tolerant races. *Ecology*, 55, 1163-1165.
- McNEILLY T., 1968.- Evolution in closely adjacent plant populations. III. *Agrostis tenuis* on a small copper mine. *Heredity, Lond.*, 23, 99-108.
- McNEILLY T. and A.D. BRADSHAW, 1968.- Evolutionary processes in populations of copper tolerant *Agrostis tenuis* Sibth. *Evolution, Lancaster, Pa.*, 22, 108-118.
- MESTRE J.-C. et PETIARD V., 1985.- La nature de la variabilité des cellules végétales en culture; les diverses causes possibles de son expression. *Bull. Soc. bot. Fr., Actual. bot.*, 132 (3), 67-78.
- MICHAUX-FERRIERE N., P. DUBLIN et J. SCHWENDIMAN, 1987.- Etude histologique de l'embryogenèse somatique à partir d'explants foliaires de *coffea arabica* L. *Café Cacao Thé*, 31(2), 103-111.
- MOREL G. et R.J. GAUTHERET, 1955.- Recherches sur les phénomènes d'histogenèse provoqués par l'acide naphthalène-acétique et le lait de coco dans les cultures de tissus d'*Amorphophallus rivieri*. *Rev. Gén. Bot.*, 62, 437-456.
- MOREL G. and R.H. WETMORE, 1951.- Tissue culture of Monocotyledones. *Amer. J. Bot.*, 38, 138-140.
- MURASHIGE T. and F. SKOOG, 1962.- A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plantarum*, 15, 473-497.

- NEVO E., R. BEN-SHLOMO and B. LAVIE, 1984.- Mercury selection of allozymes in marine organisms : prediction and verification in nature. *Proc. Nat. Acad. Sc. U.S.A.*, 81, 1258-1259.
- NEVO E., T. PERL, A. BEILES and D. WOOL, 1981.- Mercury selection of allozyme genotypes in shrimps. *Experientia*, 37, 1152-1154.
- NICOLLS O.W., D.M.J. PROVAN, M.M. COLE and J.S. TOOMS, 1965.- Geobotany and geochemistry in mineral exploration in the Dugald River Area, Cloncurry District, Australia. *Trans. Instn. Min. Metall.*, 74, 695-799.
- PAYER H.D., K.H. RUNKEL, P. SCHRAMMEL, E. STENGEL, A. BHUMIRATANA and C.J. SOEDER, 1976.- Environmental influence on the accumulation of lead, cadmium, mercury, antimony, arsenic, bromine and tin in unicellular algae cultivated in Thailand and in Germany. *Chemosphere*, 6, 413-418.
- PERICHAUD J.J., 1980.- L'antimoine, ses minerais et ses gisements. Synthèse géologique sur les gisements du Massif Central français. *Chronique de la recherche minière*, 456, 5-64.
- PERROTEY J., 1970.- Antimoine. *Encyclopaedia Universalis*, tome II, 3^eed., 96-99.
- PETERSON P.J., 1983.- Adaptation to toxic metals, 51-69. In D.A. ROBB and W.S. PIERPOINT, *Metals and micronutrients uptake and utilization by plants. Phytochemical Society of Europe Symposia, Series n° 21*. Academic Press, London.
- PITMAN A.L., M. POURBAIX et N. DE ZOUBOV, 1963.- Antimoine, 521-532. In POURBAIX M., *Atlas d'équilibres électrochimiques*, Gauthier-Villars, Paris, 644 p.
- POTTIER-ALAPETITE G., 1979.- *Flore de la Tunisie, Angiospermes-Dicotyledones, apetales-dialypetales*. Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique et Ministère de l'agriculture, Tunis, 651 p.
- QUEZEL P. et S. SANTA, 1962-1963.- *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. C.N.R.S., Paris, tome 1 et 2, 1170 p.
- RACHED-MOSBAH O., 1983.- *Etude de l'influence des sols antimonieux de la région du Djebel Hamimat sur la végétation*. Mém. Magistère en Ecologie, Univ. de Constantine, 133 p.
- RACHED-MOSBAH O. et C. GARDOU, 1988.- Relations sols-plantes dans des zones pastorales à substrat riche en antimoine : exemple du Djebel Hamimat (Algérie). *Coll. Phytosociologiques XVI : Phytosociologie et pastoralisme*, Paris, 307-320.
- RACHED-MOSBAH O., C. GARDOU et J.M. PAUWELS, 1992.- Accumulation d'antimoine par les végétaux sur sol contaminé, en zone steppique. *Bull. Soc. bot. Fr., Actual. bot.*, 139(1), 133-139.

ROBERTSON D.E., W.O. FORESTER, H.G. RIEUX and J.C. LANGFORD, 1968.- A study of the trace element and radionuclide behavior in a northeast pacific ocean ecosystem 350 miles of Newport. BNWL-715, part 2, Oregon, 92-108.

ROSE A.W., H.E. HAWKES and J.S. WEBB, 1979.- *Geochemistry in mineral exploration*. Academic press, London, 657 p.

SCHUBERT R., 1953.- Die Schwermetallpflanzengesellschaften des ostlichen Harzvorlandes. *Wiss. Z. Martin-Luther-Univ. Halle-Wittenb.*, 3, 51-70.

SCHUBERT R., 1954.- Zur Systematik und Pflanzengeographie der charakterpflanzen der Mitteldeutschen Schwermetallpflanzengesellschaften. *Wiss. Z. Martin-Luther-Univ. Halle-Wittenb.*, 3, 863-882.

SCHWICKERATH M., 1931.- Das Violetum calaminariae der Zinkboden in der Umgebund Aachens. Eine Pflanzensoziologesche Studie. *Beitr. NatDenkmPflage*, 14, 463-503.

SHAW J., 1990.- *Heavy metal in plants : Evolutionary aspects*. CRC Press, Inc., Boca raton, Florida, 355 p.

SIMEONIDIS L., T. McNEILLY and A.D. BRADSHAW, 1985.- Interpopulation variation in tolerance to cadmium, copper, lead, nickel and zinc in nine populations of *Agrostis cappillaris* L.. *New Phytol.*, 101, 317-324.

SMITH J.D., 1973.- Arsenic, antimony and bismuth, 547-685. In TROTMAN-DICKENSON A.F., *comprehensive inorganic chemistry*, tome II. Publ. Pergamon Press, 1615 p.

SNEDECOR G.W., 1937.- *Statistical methods*. Iowa State College Press, Ames, Iowa.

SONATRACH, 1977.- Notice explicative de la carte géologique au 1/200000 de Constantine. P-Q-3-4, 1°ed., Ministère de l'industrie et de l'énergie, Direction des Mines et de la Géologie. *Service de la carte géologique de l'Algérie*, 46-47.

SONDAG G., 1980.- Géochimie de surface des gîtes d'antimoine du Djebel Hamimat (sud-est du Constantinois, Algérie). *C. R. Acad. Sc. Paris*, 292, série II, 65-68.

SONET M. et A. JACOB-REMACLE, 1987.- Pollinisation de la légumineuse fourragère *Hedysarum coronarium* L. en Tunisie. *Bull. Rech. Agron. Gembloux*, 22(1), 19-32.

SPECTOR W.M., 1955.- *Handbook of toxicology*. WADC. Tech. Rep. ed. 55-16.

STOKINGER H.E., 1981.- Antimony, Sb, 1505-1517. In CLAYTON G.D. and CLAYTON F.E., *Patty's industrial hygiene and toxicology*, 3° ed., vol. 2A, Toxicology. Wiley-interscience publication, New-York, Chichester, Brisbane, Toronto, 1411 p.

STERLINC C., 1951.- Origin of buds in tobacco stem segments cultured *in vitro*. *Amer. Jour. Bot.*, 38, 761-767.

SUNSHINE I., 1969.- *Handbook of analytical toxicology*. the chemical rubber co., 1081 p.

TAYLOR G.J. and A.A. CROWDER, 1983.- Uptake and accumulation of copper, nickel and iron by *Typha latifolia* in solution culture. *Can. J. Bot.*, 61, 1825-1830.

TAYLOR G.J. and A.A. CROWDER, 1984.- Copper and nickel tolerance in *Typha latifolia* clones from contaminated and uncontaminated environments. *Can. J. Bot.*, 62, 1304-1308.

TRELEASE S.F. and A.M. TRELEASE, 1938.- Selenium as stimulating and possibly essential element for indicator plants. *Amer. Journ. Bot.*, 25, 372-380.

TRIFI-FARAH N., W.S. CHATTI, M. MARRAKCHI et J. PERNES, 1989.- Analyse de la variabilité morphologique et enzymatique des formes cultivées et spontanées de *Hedysarum coronarium* L. en Tunisie. *Agronomie*, 9, 591-598.

TRIGUI N., M. SANDMEIER, M. SALANOUBAT et J. PERNES, 1986.- Utilisation des données enzymatiques et morphologiques pour l'étude des populations et de la domestication des plantes : I. Séparation et identification génétique d'isozymes chez le mil (*Pennisetum typhoides* Bur. Stapf et Hubb.). *Agronomie*, 6(9), 779-788.

TURNER R.G. and R.P.G. GREGORY, 1967.- The use of radioisotopes to investigate heavy metal tolerances in plants, 493-509;. In "Isotopes in Plant Nutrition and Physiology", Vienna : I.A.E.A./F.A.O. Symposium.

VOUTE C., 1957.- Notice explicative de la carte géologique au 1/50000 d'Aïn Babouche, Algérie: file n° 122. *Service de la carte géologique de l'Algérie*, Alger.

WICKLAND D.E., 1990.- Vegetation of heavy metal contaminated soils in North America, 39-51. In SHAW A.J., *Heavy metal tolerance in plants : Evolutionary Aspects*, CRC press, Inc., Boca Raton, Florida, 355p.

WIJNDAELE M. and A. COTTENIE, 1981.- Air borne trace elements and their impact on soils and plants, 65-73. In COTTENIE A., *Trace elements in agriculture and in the environment*. Lab. anal. agrochemistry, R.U.G., Gand, 73 p.

WILKINS D.A., 1957.- A technique for the measurements of lead tolerance in plants. *Nature*, 180, 37-38.

WILKINS D.A., 1960.- The measurement and genetic analysis of lead tolerance in *Festuca ovina*. *Rep. Scott. Pl. Breed. Stn.* 1960, 95-98.

WILKINS D.A., 1978.- The measurement of tolerance to edaphic factors by means of rootgrowth. *New Phytol.*, 80, 623.

A N N E X E S

Annexe 1

METHODES DE PREPARATION DES EXTRAITS DE SOLS ET DE PLANTES (COTTENIE et al., 1979a et 1979c)

1. Préparation des extraits de sols

1.1. Extraction de l'antimoine total

Le procédé d'extraction consiste à ajouter 50 ml d'eau régale, c'est-à-dire un mélange de trois parts d'HCl concentré et d'une part de HNO₃ concentré, à 10 g de sol, dans un erlenmeyer. La suspension sol/acide ainsi obtenue est conservé toute une nuit, couverte d'un verre de montre. On procède ensuite à une digestion à chaud pendant deux heures. Puis, on filtre dans une fiole de 200 ml en prenant soin de bien rincer l'erlenmeyer et le refus avec de l'eau distillée chaude. On ajuste ensuite avec de l'eau distillée.

1.2. Extraction de l'antimoine assimilable

On mélange dans un erlenmeyer, 10 g de sol avec 50 ml de HNO₃ 2N. On agite ensuite mécaniquement pendant 30 minutes, puis on filtre. Le filtrat est recueilli dans des flacons en polyéthylène. On vérifie alors le pH des extraits qui doit être inférieur à 1.

2. Préparation des extraits de plantes

2.1. Préparation des échantillons de plantes

Les plantes sont lavées plusieurs fois, d'abord à l'eau du robinet, puis à l'eau distillée. Elles sont ensuite séchées à 80°C pendant 48 heures, dans une étuve ventilée. Une fois sèches, les plantes sont découpées, puis pulvérisées dans un broyeur. On obtient ainsi une fine poudre utilisable pour la calcination.

2.2. Extraction sur cendres

On pèse dans un creuset en porcelaine 1 g du matériel végétal en poudre, séché auparavant à 110°C pendant deux heures. On procède ensuite à une précalcination sur plaque chauffante. Le matériel végétal prend alors une couleur noirâtre. Il est ensuite mis dans un four à moufle à 450°C, pendant 2 à 3 heures, jusqu'à l'obtention de cendres blanches. Une fois la calcination terminée, on transfère entièrement les cendres dans un bêcher de 100 ml, moyennant 10 ml de HNO₃ 1M et quelques millilitres d'eau distillée. On procède ensuite à la digestion sur une plaque chauffante pendant 30 mn. On filtre alors la suspension dans une fiole de 50 ml, puis on rince le bêcher et le filtre à l'eau distillée et on ajuste au trait de jauge.

Annexe 2

Composition des milieux de culture

Produits chimiques	Quantités par litre de milieu (mg)		
	Milieu 1	Milieu 2	Milieu 3
Macroéléments :			
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	150	200	-
CaCl ₂ ·2H ₂ O	50	440	220
KH ₂ PO ₄	-	100	85
KNO ₃	300	300	950
MgSO ₄ ·7H ₂ O	50	50	185
(NH ₄) ₂ SO ₄	13.4	13.4	-
NH ₄ NO ₃	-	-	825
NaCl	45	-	-
Microéléments (1) :			
H ₃ BO ₃	6.2	6.2	6.2
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22.3	22.3	22.3
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.6	8.6	8.6
KI	0.83	0.83	0.83
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25	0.25	0.25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025	0.025	0.025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025	0.025	0.025
Vitamines de Morel (2) :			
Panthoténate de calcium	1	1	1
Méso-inositol	100	100	100
Biotine	0.01	0.01	0.01
Acide nicotinique	1	1	1
Pyridoxine (vit. B ₆)	1	1	1
Thiamine (vit. B ₁)	1	1	1
FeEDTA :			
Na ₂ EDTA	37.3	37.3	37.3
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.8	27.8	27.8
Saccharose	20 g	20 g	20 g
Agar (Bacto-agar Difco)	8 g	8 g	8 g

(1) MURASHIGE et SKOOG (1962)

(2) MOREL et WETMORE (1951)

Longueurs des racines (en cm) en fonction du temps (en semaines) et de la concentration en antimoine du milieu, pour la population des déblais de mine
(*Hedysarum pallidum* Desf.)

p.p.m. Sb	0				5				10				20				40			
temps	0	1	2	8	0	1	2	8	0	1	2	8	0	1	2	8	0	1	2	8
individus																				
1-1	1.00	3.10	5.00	6.20	1.20	3.40	6.00	16.50	1.10	2.50	2.50	2.50	1.20	2.50	2.50	2.50	1.40	3.90	5.20	5.50
1-2	1.00	1.00	1.00	1.00	0.90	3.20	4.30	5.50	1.00	3.30	4.50	4.50	0.60	2.10	5.30	8.00	1.00	2.90	4.20	4.50
1-3	1.10	2.90	3.70	4.00	1.00	2.00	2.60	2.50	0.70	2.40	4.00	4.00	0.40	0.70	1.60	3.00	0.90	1.50	1.80	1.80
1-4	0.80	4.70	6.50	12.50	0.60	1.10	1.10	1.10	0.70	1.90	4.80	10.00	0.70	0.90	0.90	0.90	0.60	1.00	1.00	1.00
1-5	1.40	4.20	6.60	10.00	1.00	2.80	3.40	4.50	0.60	1.10	1.20	1.20	0.70	1.90	4.80	5.00	0.40	0.40	0.50	0.50
2-1	1.00	5.00	8.20	20.60	1.30	2.90	3.00	3.00	0.60	0.70	0.70	0.70	2.00	5.10	6.70	7.50	2.10	4.60	7.50	10.00
2-2	1.60	5.50	7.00	10.00	1.30	4.30	6.10	7.50	1.40	3.40	4.80	5.50	1.20	3.00	4.00	4.50	1.20	4.70	6.40	16.00
2-3	0.70	1.00	1.00	1.00	1.20	4.40	6.30	11.50	0.50	3.50	3.50	3.50	0.90	3.70	5.90	9.50	1.00	4.20	8.00	15.00
2-4	1.00	1.00	1.00	1.00	0.60	1.00	1.00	1.00	0.50	3.20	5.00	9.50	1.10	4.50	7.50	18.50	0.90	2.40	2.50	5.00
2-5	1.20	3.00	3.50	5.00	0.30	0.60	0.70	0.70	1.30	4.50	4.60	8.50	1.40	4.60	6.00	6.00	1.70	3.80	5.30	10.50
2-6	0.90	4.30	7.50	10.00	1.20	3.50	4.70	5.00	1.70	4.40	5.50	7.50	0.50	3.00	5.10	5.50	1.50	4.00	4.00	4.30
2-7	0.60	2.00	3.00	4.50	1.30	6.30	10.00	23.00	1.10	2.80	5.40	6.50	0.60	0.60	0.70	0.70	1.40	3.50	5.00	5.00
3-1	1.50	5.20	7.40	7.40	1.70	4.90	7.30	7.30	1.60	3.80	5.50	8.70	1.00	2.40	4.10	6.00	1.50	3.30	4.30	6.50
3-2	1.30	3.50	5.20	6.30	1.20	4.80	7.80	10.00	1.00	4.60	5.00	5.70	1.10	1.90	2.00	2.50	1.60	3.80	5.20	6.00
3-3	1.00	2.50	2.50	2.50	1.70	4.30	5.50	10.50	0.50	3.40	5.30	6.00	1.20	3.00	4.80	6.00	1.50	3.70	4.60	9.50
3-4	0.40	1.20	1.40	1.40	0.60	2.00	4.10	4.10	1.10	3.30	3.70	5.30	1.80	3.90	6.20	8.50	1.60	3.50	3.50	7.00
3-5	0.60	2.20	2.50	2.50	0.70	1.00	1.00	1.00	1.50	5.20	5.80	6.00	0.20	0.80	1.00	1.00	1.30	4.50	4.70	10.00
3-6	1.50	3.40	6.00	8.00	1.00	3.90	6.60	19.00	0.10	0.50	0.50	1.00	0.20	0.60	1.00	1.00	0.60	1.90	3.20	4.00
3-7	0.90	2.30	2.30	2.30	1.80	4.70	6.00	8.00	0.70	1.40	1.60	2.00	0.20	0.60	0.80	0.80	0.90	1.20	1.20	1.20
3-8	1.90	5.20	6.50	19.50	0.60	0.70	0.70	0.70	0.60	1.20	1.50	1.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.70	0.70	0.70	0.70
4-1	1.30	2.50	2.90	2.90	1.30	3.80	4.50	6.50	1.20	1.70	1.70	2.00	0.70	4.30	6.60	10.00	1.70	4.00	4.50	4.50
4-2	1.30	2.30	2.90	2.90	1.10	3.00	3.20	3.50	1.30	4.30	6.00	6.50	0.30	0.60	0.90	0.90	1.10	1.40	1.50	2.50
4-3	1.30	2.80	4.20	5.50	0.70	2.00	2.00	2.00	0.80	1.30	1.30	2.60	1.20	1.90	2.70	4.00	1.30	3.50	3.90	4.00
4-4	1.90	4.00	4.20	4.20	0.70	2.10	2.60	2.60	0.50	3.40	4.50	4.50	0.60	2.00	3.20	6.50	1.60	2.50	3.40	4.00
4-5	2.00	4.20	5.80	9.00	1.40	1.50	1.70	1.70	2.00	4.60	5.20	5.20	0.30	0.30	0.40	0.50	1.10	2.90	3.40	4.50
4-6	1.20	4.00	5.40	5.50	0.60	3.00	6.50	15.50	0.80	1.60	1.60	1.60	1.00	1.30	1.40	1.50	0.90	2.20	3.50	5.00
4-7	1.00	3.50	5.40	8.30	0.80	2.80	4.30	5.00	0.80	1.80	2.50	2.50	0.60	2.00	3.50	5.00	0.50	0.60	0.70	0.70
4-8	1.40	3.90	5.10	5.60	1.50	3.00	3.00	3.00	0.90	2.40	3.10	3.60	0.10	0.10	0.10	0.10	0.30	1.20	1.80	2.50
4-9	0.50	3.30	4.50	4.50	0.90	2.10	2.30	2.30	1.30	1.40	1.50	1.50	0.70	0.80	0.90	0.50	0.30	1.00	1.00	1.00
5-1	0.60	2.20	4.50	4.60	1.00	2.70	4.80	7.10	1.40	1.50	1.50	1.50	0.80	1.60	1.60	1.50	1.20	2.00	2.00	2.00
5-2	1.00	1.70	1.90	2.00	0.40	1.40	2.60	4.00	0.40	3.50	6.70	7.50	0.70	0.80	0.80	0.80	1.10	2.70	3.00	3.00
5-3	0.80	1.80	2.00	2.20	0.70	1.40	2.10	5.50	0.50	1.00	1.00	1.00	0.60	0.80	0.90	0.90	0.60	1.40	1.90	2.20
5-4	1.20	2.70	5.00	7.30	1.20	4.20	6.00	6.50	0.20	0.90	1.00	1.00	0.40	0.50	0.50	0.50	0.70	0.70	0.70	0.70
5-5	0.70	2.50	3.50	3.50	0.90	1.20	1.40	2.00	0.60	2.30	4.10	4.50	0.60	2.30	4.20	6.30	0.70	1.10	1.40	1.40
5-6	1.20	3.20	3.20	3.20	1.00	1.00	1.30	1.50	0.80	3.60	5.70	11.00	0.40	1.00	1.20	2.00	0.80	1.00	1.20	1.20
Moyennes	1.11	3.08	4.24	5.91	1.01	2.77	3.90	6.03	0.91	2.64	3.51	4.47	0.76	1.90	2.87	3.97	1.08	2.51	3.22	4.66

Longueurs des racines (en cm), en fonction du temps (en semaines) et de la concentration en antimoine du milieu, pour la population témoin
(*Hedysarum pallidum* Desf.)

p.p.m. Sb	0				5				10				20				40			
temps	1	2	3	8	1	2	3	8	1	2	3	8	1	2	3	8	1	2	3	8
individus																				
6-1	0.70	1.70	2.30	2.30	0.50	0.80	0.80	0.80	1.10	1.50	1.50	1.50	0.70	0.70	0.70	0.70	1.10	1.30	1.50	1.50
6-2	0.30	0.80	1.50	3.50	1.00	4.00	6.00	10.00	1.40	3.20	3.30	5.00	0.60	0.80	1.00	1.00	1.00	1.00	1.10	1.10
6-3	1.30	3.10	3.50	4.50	1.50	1.70	1.70	2.00	1.10	1.40	2.40	3.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.40	1.80	1.80	2.00
6-4	1.30	3.40	5.00	6.50	1.40	2.90	4.10	5.00	1.70	1.80	2.30	5.00	1.30	4.20	4.50	4.50	1.20	2.20	3.50	5.00
7-1	1.00	2.30	2.60	2.60	0.40	1.10	1.10	1.10	0.60	1.00	1.10	1.10	0.80	1.60	2.40	5.00	1.20	1.20	1.20	1.20
7-2	0.50	0.60	1.00	1.00	1.00	2.90	2.90	3.50	0.30	0.30	0.30	0.30	0.50	0.50	0.90	0.90	0.70	0.70	0.70	0.70
7-3	0.30	0.40	0.60	0.60	0.50	0.50	0.60	0.60	0.80	2.00	3.10	4.50	0.60	0.80	0.80	1.00	1.00	1.20	1.60	1.60
8-1	0.60	2.30	3.20	4.00	0.80	0.80	1.00	1.00	0.20	0.50	0.50	0.50	0.50	0.60	0.60	0.60	1.30	1.30	1.30	1.30
8-2	0.40	1.40	2.00	3.60	0.20	0.50	1.00	1.00	0.50	0.80	1.00	1.00	0.50	0.70	1.30	1.30	1.00	1.00	1.00	1.00
8-3	1.10	3.10	3.00	3.00	1.20	1.60	1.60	1.60	1.20	3.00	3.90	3.90	1.00	2.50	4.20	4.30	0.80	1.00	1.40	1.40
8-4	0.20	1.60	2.20	4.00	1.20	3.20	5.10	6.00	0.80	2.10	4.00	5.30	0.90	3.10	5.20	6.50	0.50	0.80	0.90	0.90
9-1	0.20	0.80	0.80	0.80	0.20	0.20	0.20	0.20	1.00	1.00	1.30	1.50	0.90	2.70	3.90	5.00	0.80	0.80	1.20	1.50
9-2	0.70	3.00	4.00	4.50	0.90	2.80	3.00	3.00	1.00	3.50	5.00	6.50	0.90	1.20	1.40	2.00	1.00	2.60	4.00	5.00
9-3	1.00	2.70	3.40	3.50	0.90	3.20	5.20	9.50	1.10	1.40	2.70	4.00	0.90	2.30	3.80	5.00	0.80	1.20	1.80	1.80
10-1	0.20	2.00	3.50	11.00	0.20	0.50	0.70	0.70	0.40	0.70	0.70	0.70	1.00	2.50	6.50	9.50	1.00	1.00	1.00	1.00
10-2	0.30	0.40	0.50	0.50	0.20	0.30	0.70	0.70	1.00	1.50	1.50	1.50	0.90	0.90	1.00	1.00	0.80	1.10	1.20	1.20
10-3	1.00	1.70	1.70	1.70	0.80	1.50	1.90	1.90	0.50	0.50	0.80	0.80	0.60	0.60	0.80	0.80	0.50	0.80	0.90	0.90
11-1	0.30	0.70	0.70	0.70	0.60	0.80	1.20	1.20	0.50	0.50	0.50	0.50	1.40	2.00	2.00	2.00	1.40	1.90	1.90	1.90
11-2	1.20	3.20	3.50	3.50	0.40	0.80	1.20	1.20	0.30	1.10	1.20	1.20	0.90	2.00	2.00	2.00	1.20	1.30	1.30	1.30
11-3	1.20	3.80	4.60	6.50	0.50	0.70	1.20	1.20	1.20	4.00	4.50	4.50	1.20	4.00	5.10	5.50	0.60	0.90	1.10	1.10
11-4	0.60	4.00	5.80	12.00	1.20	2.20	2.30	2.50	1.70	3.40	3.50	3.50	0.70	0.80	0.80	1.50	0.80	0.80	1.00	1.00
12-1	0.40	2.50	3.10	3.50	0.50	0.60	0.70	0.70	0.70	0.70	0.90	0.90	0.70	0.70	1.00	1.00	1.00	1.30	1.40	1.40
12-2	0.70	2.20	2.90	5.00	1.10	3.50	4.90	6.00	0.50	0.50	0.50	0.50	0.70	0.70	1.00	1.00	0.80	0.90	0.90	1.20
12-3	0.50	2.00	3.30	4.00	0.60	0.60	1.00	1.00	0.90	2.30	2.30	2.50	1.40	2.70	4.60	19.00	0.80	1.00	1.10	1.10
13-1	0.50	1.20	1.20	1.20	0.20	0.80	0.80	0.80	0.30	0.50	0.70	0.70	1.20	4.20	5.50	9.50	1.20	1.20	1.10	1.10
13-2	0.40	0.80	0.80	0.80	1.00	2.00	2.50	2.50	1.20	1.50	2.40	4.00	0.60	0.60	0.60	0.60	0.90	2.30	3.50	13.00
13-3	0.80	1.00	1.70	3.50	0.40	0.40	0.50	0.50	1.10	1.10	1.10	1.10	0.70	1.00	1.50	1.50	0.50	0.70	1.10	1.10
14-1	0.60	2.90	2.90	2.90	0.80	1.40	1.40	1.40	0.20	0.20	0.70	0.70	0.80	1.00	1.00	1.00	0.70	0.70	0.70	0.70
14-2	0.40	0.50	0.50	0.50	0.90	2.50	2.90	3.50	1.20	1.30	3.30	3.30	1.00	1.00	1.00	1.00	0.70	0.70	0.70	0.90
14-3	1.00	3.40	4.50	5.50	0.90	0.90	1.00	1.00	0.80	1.30	1.50	1.50	1.00	1.00	1.50	1.50	0.90	1.60	1.80	1.80
14-4	1.00	1.00	1.30	1.50	0.60	0.60	0.70	0.70	0.60	0.80	0.80	0.80	1.40	1.60	2.50	2.50	0.40	0.50	0.60	0.60
15-1	1.00	2.50	3.10	3.50	1.30	4.70	7.30	7.30	0.70	0.80	0.80	0.80	1.20	2.90	4.20	5.00	1.20	2.70	2.70	2.70
15-2	1.20	2.70	2.70	5.00	0.90	2.60	3.20	4.50	1.60	1.70	1.70	2.00	1.20	3.20	5.50	6.00	1.00	1.30	1.30	1.00
15-3	0.90	3.40	4.60	6.50	1.00	4.80	7.00	8.00	0.90	2.20	3.50	5.00	1.10	2.80	5.00	6.00	0.80	1.00	1.90	1.90
15-4	0.70	1.10	1.10	1.10	1.20	3.40	3.20	3.20	1.00	2.70	5.30	6.50	1.20	3.50	5.30	9.00	1.20	1.20	1.20	1.20
Moyennes	0.70	2.01	2.55	3.57	0.77	1.77	2.30	2.74	0.86	1.51	2.02	2.47	0.92	1.79	2.61	3.60	0.92	1.23	1.47	1.83

Longueurs des parties aériennes (cm), en fonction du temps (en semaines) et de la concentration en antimoine du milieu, pour la population des déblais de mine (*Hedysarum pallidum* Desf.)

p.p.m. Sb	0				5				10				20				40					
	temps	2	3	4	8	2	3	4	8	2	3	4	8	2	3	4	8	2	3	4	8	
individus																						
1-1	1.30	3.00	3.80	6.80	1.70	3.40	4.70	15.00	1.00	1.40	2.00	7.80	1.10	2.50	2.50	3.50	2.90	4.60	5.60	9.00		
1-2	1.00	1.00	1.00	1.00	0.80	2.00	2.40	4.50	1.90	2.80	3.30	5.50	0.60	1.30	1.60	1.60	0.80	1.90	1.90	7.00		
1-3	0.70	1.50	1.70	3.00	1.20	1.80	2.20	5.50	0.70	1.50	1.60	5.00	0.50	1.20	1.70	9.00	0.70	1.30	1.60	1.60		
1-4	0.70	2.50	5.20	15.60	0.80	1.00	1.50	1.50	0.40	0.70	0.70	4.00	0.70	1.00	1.20	1.20	0.50	0.70	0.70	0.70		
1-5	1.80	2.70	3.90	9.00	1.10	1.90	2.00	5.00	0.50	1.00	1.00	1.00	0.80	2.50	4.00	11.50	0.50	1.00	1.00	1.00		
2-1	1.10	2.50	2.50	2.50	0.90	1.20	1.30	3.00	0.70	1.10	1.20	1.20	1.30	1.70	2.50	7.00	1.00	1.60	2.50	9.50		
2-2	1.70	4.30	4.50	4.50	1.50	2.70	3.50	5.00	0.70	1.50	2.20	6.00	1.00	1.70	2.80	7.00	1.70	2.00	3.20	7.50		
2-3	0.70	0.90	1.00	1.00	1.30	3.00	4.20	7.50	1.50	2.50	4.30	4.50	0.60	0.80	1.60	3.00	0.60	0.80	0.80	4.00		
2-4	0.70	1.20	1.30	1.30	0.50	0.60	0.70	0.70	0.90	1.40	2.80	10.00	1.50	3.00	3.40	3.40	0.70	0.80	1.00	7.00		
2-5	1.00	1.80	2.00	4.60	0.60	0.80	0.80	0.80	2.00	3.00	5.20	12.50	1.70	2.40	2.80	9.00	1.40	2.20	2.80	5.50		
2-6	1.40	3.20	3.80	6.00	0.80	0.80	1.00	9.00	1.80	3.50	4.80	13.00	0.50	2.40	5.50	7.00	1.40	1.70	1.80	5.50		
2-7	0.70	1.00	1.00	8.50	1.50	3.20	4.30	6.50	0.60	1.40	2.30	5.00	0.60	1.00	1.50	1.50	0.60	0.70	0.90	2.50		
3-1	0.80	1.60	2.40	6.70	1.80	2.80	3.60	13.50	1.50	4.00	4.50	6.50	0.60	1.80	1.80	7.80	1.70	2.70	3.60	13.00		
3-2	1.90	1.90	2.40	9.00	1.30	2.00	2.30	12.50	0.90	2.10	2.80	8.70	1.30	2.20	2.40	6.00	1.20	2.00	2.00	8.00		
3-3	1.30	2.00	3.00	3.30	1.70	3.00	3.80	12.50	1.80	3.40	5.50	6.50	2.00	2.80	3.20	12.00	1.60	3.00	4.00	9.50		
3-4	1.30	1.80	2.00	1.50	0.50	0.70	1.00	2.50	2.00	3.20	4.10	9.50	1.20	1.80	2.40	11.00	1.00	2.40	2.80	11.50		
3-5	0.40	0.70	2.00	5.00	0.80	1.40	1.70	1.70	1.70	3.80	5.20	7.50	0.60	1.50	1.60	3.50	1.80	2.10	2.60	8.50		
3-6	1.10	2.40	3.20	9.50	0.70	2.20	3.50	8.50	0.10	0.40	0.50	0.50	0.60	0.80	0.80	0.80	1.00	1.50	2.40	6.00		
3-7	1.10	1.80	2.30	5.00	1.40	2.10	2.50	10.00	1.40	3.30	3.30	5.50	0.60	0.80	0.80	0.80	0.80	1.00	1.40	1.40		
3-8	1.40	2.80	4.80	11.70	0.50	0.80	1.00	1.00	0.70	2.60	4.20	5.50	0.10	0.50	0.50	0.50	0.70	1.00	1.30	1.30		
4-1	0.90	1.50	1.90	7.00	1.80	2.50	4.50	12.00	1.10	1.80	2.10	13.20	1.00	1.50	2.70	12.00	0.70	1.70	3.00	13.00		
4-2	1.20	2.00	2.70	5.80	1.30	2.10	3.20	11.50	0.80	1.00	2.20	11.00	0.50	0.50	0.60	0.60	0.80	1.50	1.70	7.50		
4-3	2.20	3.00	3.40	4.00	1.70	2.80	4.80	8.80	0.90	1.50	1.70	7.50	1.40	2.90	3.80	4.50	1.40	2.90	2.90	10.50		
4-4	1.50	1.90	2.00	2.00	1.00	2.00	2.40	9.00	1.20	3.30	4.70	13.50	0.70	1.70	2.00	13.00	1.50	2.60	3.40	6.00		
4-5	2.00	3.30	4.90	9.70	1.00	1.60	1.80	1.80	1.20	2.00	2.20	2.20	0.80	2.70	2.70	7.50	2.00	3.20	3.70	4.00		
4-6	1.20	2.50	3.20	11.50	1.80	3.50	6.00	19.00	0.80	1.30	1.60	1.60	1.30	2.40	2.90	8.00	1.70	3.20	3.60	7.50		
4-7	0.90	2.40	4.50	14.50	1.50	2.70	5.00	13.00	0.90	1.70	2.50	5.00	1.10	2.80	4.70	9.00	0.60	0.70	0.70	0.70		
4-8	1.10	2.00	4.00	10.70	1.30	2.50	2.70	5.80	0.50	1.20	1.70	8.00	0.10	0.40	0.40	0.40	0.80	2.50	2.60	5.00		
4-9	0.80	2.60	3.80	13.30	0.60	1.20	1.20	3.50	1.60	2.00	2.70	4.50	0.80	1.80	1.80	5.00	0.60	0.80	1.00	2.00		
5-1	1.60	1.80	2.00	11.00	1.10	1.80	2.40	9.20	1.00	1.90	2.20	10.50	1.20	1.90	2.10	5.00	2.20	2.40	2.50	2.70		
5-2	1.10	2.30	3.00	3.50	0.60	1.60	2.00	11.50	0.80	2.70	4.50	6.00	0.80	1.20	2.00	2.00	1.40	2.10	2.20	3.00		
5-3	1.00	1.60	1.60	2.00	0.70	0.80	1.30	6.00	0.80	1.10	1.80	1.80	0.70	1.00	1.70	1.70	0.70	1.00	1.60	3.50		
5-4	1.00	1.70	2.60	5.50	1.50	2.50	2.60	6.50	0.20	0.30	0.50	0.50	0.50	0.80	0.80	3.50	0.60	0.90	1.00	1.00		
5-5	1.10	1.80	2.40	6.40	1.10	2.50	3.40	4.00	1.10	2.00	2.50	3.00	0.80	1.60	2.20	9.50	0.50	1.00	1.40	1.40		
5-6	1.60	3.00	3.30	4.00	0.60	1.10	1.30	3.50	0.80	1.60	3.00	6.00	0.60	2.00	3.30	11.00	0.50	0.80	1.00	1.00		
Moyennes	1.18	2.11	2.83	6.47	1.11	1.96	2.65	7.18	1.04	2.00	2.78	6.29	0.86	1.68	2.24	5.71	1.10	1.78	2.18	5.39		

Longueurs des parties aériennes (en cm), en fonction du temps (en semaines) et de la concentration en antimoine du milieu, pour la population témoin (*Hedysarum pallidum* Desf.)

p.p.m. Sb	0				5				10				20				40			
	temps				temps				temps				temps				temps			
individus	2	3	4	8	2	3	4	8	2	3	4	8	2	3	4	8	2	3	4	8
6-1	0.70	0.70	1.70	3.00	0.80	0.80	1.40	1.40	0.80	1.00	1.20	1.20	0.50	0.70	1.00	1.00	1.30	2.00	2.10	2.10
6-2	0.80	0.80	1.00	5.00	1.70	4.00	5.50	5.50	1.80	2.40	4.30	9.00	0.80	1.00	1.00	1.00	1.00	1.20	1.30	1.30
6-3	1.70	3.00	4.80	12.30	2.60	3.00	3.00	6.50	0.60	1.00	1.10	3.50	2.70	3.80	3.80	4.00	0.80	1.50	1.60	1.60
6-4	1.80	2.10	2.70	9.00	1.00	1.20	1.50	3.00	1.30	1.80	2.00	5.00	1.80	2.20	2.30	5.00	2.00	3.80	4.20	4.50
7-1	0.80	1.00	1.20	1.20	0.90	1.00	1.20	1.20	0.70	1.00	1.40	1.40	2.50	3.40	5.70	7.00	0.90	0.90	0.90	0.90
7-2	0.80	0.80	1.30	1.30	1.50	2.50	2.70	5.00	0.50	0.50	0.50	0.50	0.80	0.90	1.00	1.00	0.80	1.40	1.40	1.40
7-3	0.50	0.50	0.60	0.60	0.50	0.60	0.70	0.70	0.80	1.90	3.70	7.00	1.90	3.00	4.30	6.50	1.00	1.00	2.00	8.00
8-1	0.60	1.50	2.00	10.00	0.70	0.70	0.70	0.70	0.50	0.50	0.50	0.50	0.70	1.00	1.00	1.00	0.50	0.70	0.90	0.90
8-2	0.60	1.00	1.80	7.50	0.60	0.60	0.60	0.60	0.50	0.60	0.70	0.70	0.70	1.00	1.20	1.20	0.50	0.80	0.80	0.80
8-3	0.80	1.00	1.10	9.50	0.90	2.00	2.00	7.00	0.90	1.70	2.90	6.20	1.70	3.30	3.70	12.50	0.50	0.50	0.80	0.80
8-4	0.60	1.10	2.70	11.00	2.50	3.20	3.90	6.00	0.90	1.80	3.20	12.50	0.70	1.10	1.80	13.50	0.70	0.80	0.90	0.90
9-1	0.70	1.00	1.20	1.20	0.20	0.40	0.40	0.40	1.20	2.20	2.60	3.00	2.50	3.10	4.20	8.50	2.50	4.30	4.30	4.30
9-2	1.60	3.00	4.50	8.50	1.50	2.50	4.00	7.50	2.10	3.20	3.40	10.00	2.90	3.10	3.70	5.00	2.00	2.80	3.40	4.00
9-3	2.00	3.70	4.00	6.00	2.10	3.20	4.70	9.00	1.00	2.00	3.10	13.00	1.40	2.50	3.50	7.50	0.70	0.80	0.80	0.80
10-1	0.40	0.50	0.60	5.50	0.70	0.70	0.70	0.70	0.60	0.80	1.30	1.30	0.90	1.20	1.30	8.00	0.80	0.80	1.00	1.00
10-2	0.70	0.80	1.00	1.00	0.80	0.80	0.80	0.80	1.20	1.40	1.80	1.80	0.70	0.70	0.80	0.80	1.00	1.30	1.50	1.50
10-3	0.60	1.00	1.00	1.00	1.60	2.50	2.70	4.00	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	1.00	1.00	1.00	0.80	1.00	1.20	1.20
11-1	1.00	1.00	1.00	1.00	0.50	0.50	1.50	1.50	0.50	0.70	0.70	0.70	0.80	1.50	1.60	6.50	0.80	2.40	2.70	3.00
11-2	1.30	2.30	2.90	13.00	0.60	0.80	1.00	1.00	0.30	0.50	0.70	0.70	0.80	1.30	1.70	2.00	0.80	1.00	1.00	1.00
11-3	2.30	3.60	5.00	12.00	0.70	0.80	1.00	1.00	2.10	3.30	4.50	7.00	2.50	3.30	6.90	9.00	0.90	1.20	1.20	1.20
11-4	1.00	2.50	4.80	13.00	1.50	2.00	2.30	5.00	0.60	2.20	2.50	5.50	0.80	2.00	2.20	3.00	0.80	1.20	1.50	1.50
12-1	0.80	1.90	2.20	7.80	0.80	0.80	0.90	0.90	0.80	0.80	1.00	1.00	0.70	0.80	1.00	1.00	0.90	0.90	0.90	0.90
12-2	0.50	1.00	1.20	8.80	1.20	2.00	3.00	8.00	0.70	0.80	0.90	0.90	0.80	0.80	1.00	1.00	1.00	1.20	1.30	1.30
12-3	0.80	2.00	2.10	3.50	0.80	0.80	1.30	1.30	0.80	1.30	1.60	2.50	1.80	2.40	2.80	5.00	0.90	1.20	1.20	1.20
13-1	0.60	0.90	1.10	1.20	0.80	0.80	0.80	0.80	0.50	0.70	1.00	1.00	1.50	2.20	3.40	8.50	0.80	0.80	1.00	1.00
13-2	0.50	0.80	1.00	1.00	0.80	1.00	1.80	1.50	2.10	2.10	3.30	4.50	0.60	0.80	0.80	0.80	1.20	1.50	2.00	6.00
13-3	1.70	2.50	3.50	4.00	0.40	0.60	0.70	0.70	0.50	0.50	0.80	0.80	0.60	0.80	0.80	0.80	0.70	1.00	1.40	1.40
14-1	1.50	3.30	5.30	5.50	0.80	0.80	1.00	1.00	0.70	0.70	1.00	1.00	0.40	0.80	1.00	1.00	0.50	0.80	0.80	0.80
14-2	0.20	0.40	0.40	0.40	1.30	1.80	2.00	5.50	0.70	1.00	1.00	4.50	0.60	1.00	1.00	1.00	0.30	0.30	0.30	0.30
14-3	2.00	6.50	7.50	7.50	0.80	1.00	1.50	1.50	2.70	3.00	3.00	3.00	0.50	0.50	1.20	1.20	1.20	2.60	2.90	2.90
14-4	1.00	1.10	1.10	3.50	0.50	0.70	0.70	3.00	0.60	1.00	1.10	1.10	2.40	2.80	2.80	5.00	0.50	0.60	0.60	0.60
15-1	2.10	3.00	4.60	4.50	1.50	2.30	3.50	5.00	0.70	0.80	0.80	0.80	1.30	2.30	3.20	10.00	1.30	1.70	2.20	2.20
15-2	1.20	1.20	1.30	5.00	1.80	3.70	3.90	9.50	1.30	2.10	3.00	6.00	0.80	2.30	3.50	8.00	1.00	2.30	3.00	3.00
15-3	0.70	1.70	3.00	9.00	1.10	2.00	2.80	10.00	1.50	2.10	3.30	11.50	0.80	1.50	1.80	7.00	1.00	1.00	1.00	1.00
15-4	0.70	0.70	1.00	1.00	0.90	1.00	1.20	1.20	1.80	3.70	7.00	12.50	2.30	3.20	5.00	11.50	0.80	1.00	1.00	1.00
Moyennes	1.02	1.71	2.35	5.58	1.07	1.52	1.93	3.38	1.00	1.48	2.05	4.07	1.26	1.81	2.37	4.77	0.95	1.38	1.57	1.89

Nombre de feuilles en fonction du temps (en semaines) et de la concentration en antimoine du milieu pour la population des déblais de mine
(*Hedysarum pallidum* Desf.)

p.p.m. Sb	0				5				10				20				40			
	2	3	4	8	2	3	4	8	2	3	4	8	2	3	4	8	2	3	4	8
1-1	1	2	3	11	1	2	3	21	1	1	2	8	0	1	1	6	1	1	2	7
1-2	0	0	0	0	0	1	2	9	1	2	3	10	0	1	1	3	1	1	3	11
1-3	0	1	1	7	1	2	3	9	0	1	2	20	1	2	3	10	0	0	0	0
1-4	1	3	4	20	0	0	0	0	0	1	1	12	0	0	0	0	0	0	0	0
1-5	1	2	3	18	1	1	2	7	0	0	0	0	1	2	3	13	1	1	1	15
2-1	1	2	3	10	1	1	1	6	0	0	0	0	1	1	2	10	1	2	4	18
2-2	1	2	3	15	1	2	3	14	1	2	3	19	1	1	2	10	1	2	4	18
2-3	0	1	1	0	1	2	4	20	1	2	4	18	0	1	3	16	1	1	1	17
2-4	0	0	1	0	0	0	0	0	1	2	3	11	1	2	3	25	0	0	0	13
2-5	1	1	2	10	0	0	0	0	1	2	3	16	1	2	3	12	1	2	4	14
2-6	1	2	3	14	0	0	1	11	1	1	2	12	1	2	3	18	1	2	3	12
2-7	0	0	0	6	1	1	3	17	0	1	2	7	0	0	0	0	0	0	0	6
3-1	1	1	3	11	1	1	2	12	1	1	2	7	1	1	2	10	1	2	3	12
3-2	0	2	3	13	1	2	3	15	1	1	2	10	1	1	2	9	1	1	2	9
3-3	1	2	3	10	1	2	3	11	1	2	4	24	1	2	3	11	1	2	3	18
3-4	1	2	3	11	0	0	0	5	1	2	2	9	1	1	3	15	1	1	2	11
3-5	0	0	1	17	0	0	0	0	1	3	4	17	0	1	2	9	1	2	3	15
3-6	1	1	2	9	1	2	3	16	0	0	0	3	0	0	0	0	1	2	2	14
3-7	1	1	2	8	1	1	3	11	1	2	3	15	0	0	0	0	0	0	0	0
3-8	1	2	4	17	0	0	0	0	0	2	3	12	0	0	1	2	0	0	0	0
4-1	1	1	2	8	1	2	4	22	1	1	2	10	1	2	3	15	1	2	3	19
4-2	1	1	2	9	1	2	2	10	0	1	2	10	0	0	0	0	1	1	2	9
4-3	1	1	2	12	1	2	3	8	0	1	2	16	1	3	5	15	1	2	3	11
4-4	1	1	2	5	1	2	2	9	1	2	3	15	0	1	3	12	1	2	2	9
4-5	1	1	3	13	1	1	2	5	1	1	2	7	1	2	3	23	1	1	2	10
4-6	1	2	3	16	1	2	4	30	0	0	0	0	1	2	3	22	1	2	4	14
4-7	1	2	3	12	1	2	3	11	1	2	3	7	1	2	4	20	0	0	1	0
4-8	1	2	3	17	1	1	2	8	1	1	2	14	0	0	0	0	0	1	3	7
4-9	1	1	2	10	1	1	2	6	1	2	3	20	1	1	2	12	0	0	1	8
5-1	1	2	4	13	1	2	4	14	1	1	3	23	1	1	2	9	1	2	3	8
5-2	1	2	2	6	1	1	3	13	1	2	4	32	0	0	0	0	1	2	3	12
5-3	1	1	1	8	0	0	0	22	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	2	7
5-4	1	1	2	20	1	2	4	11	0	0	0	0	0	1	1	8	0	0	0	0
5-5	1	2	3	10	0	2	3	25	1	2	3	4	1	2	3	16	0	0	0	0
5-6	1	1	2	6	0	1	2	8	0	2	3	12	0	1	3	13	0	0	1	3
Moyennes	0.80	1.37	2.31	10.63	0.69	1.23	2.17	11.03	0.63	1.31	2.20	11.43	0.54	1.17	2.06	10.31	0.60	1.06	1.80	8.83

Annexe 7

Nombre de feuilles, en fonction du temps (en semaine) et de la concentration en antimoine du milieu, pour la population témoin
(*Hedysarum pallidum* Desf.)

p.p.m. Sb	0				5				10				20				40			
temps	2	3	4	8	2	3	4	8	2	3	4	8	2	3	4	8	2	3	4	8
individus																				
6-1	0	1	2	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6-2	0	0	0	12	1	3	5	27	1	2	2	8	0	0	0	0	0	0	0	0
6-3	1	2	3	12	1	2	3	20	1	1	2	11	1	1	2	14	0	0	0	0
6-4	1	2	3	11	1	1	2	30	1	2	3	17	1	2	3	11	1	3	4	15
7-1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	5	28	0	0	0	0
7-2	0	0	0	0	1	2	5	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7-3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	4	24	1	3	4	22	1	3	4	10
8-1	0	1	2	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8-2	1	2	3	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8-3	0	1	1	7	1	1	3	11	1	2	2	7	1	2	4	14	0	0	0	0
8-4	1	1	2	11	1	2	4	16	1	2	3	16	0	1	3	14	0	0	0	0
9-1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	9	1	2	3	14	1	2	3	17
9-2	1	2	3	13	1	2	3	10	1	2	3	16	1	2	3	15	1	2	4	11
9-3	1	2	3	13	1	2	3	23	1	2	3	12	1	2	3	12	0	0	0	0
10-1	0	1	1	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	20	0	0	0	0
10-2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	5	0	0	0	0	0	0	0	0
10-3	1	1	2	4	1	2	3	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	6	0	0	0	0
11-2	1	2	3	11	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	4	24	0	0	0	0
11-3	1	2	3	11	0	0	0	0	1	2	3	13	1	3	4	24	0	0	0	0
11-4	1	2	4	21	1	2	4	25	1	2	3	16	1	2	3	19	0	0	0	0
12-1	1	1	2	9	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
12-2	1	1	3	15	1	2	3	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12-3	0	1	2	8	0	0	0	0	1	1	4	21	1	2	3	13	0	0	0	0
13-1	0	1	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3	16	0	0	0	0
13-2	0	1	1	1	1	1	1	5	1	3	4	22	0	0	0	0	1	2	3	21
13-3	1	2	4	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14-1	1	2	3	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14-2	0	0	0	0	1	2	3	19	0	1	2	14	0	0	0	0	0	0	0	0
14-3	1	3	4	40	0	0	0	0	1	2	4	24	0	0	0	0	1	1	1	2
14-4	1	1	1	19	0	1	1	5	0	0	0	0	1	2	3	23	0	0	0	0
15-1	1	3	4	14	1	2	2	6	0	0	0	0	1	2	4	15	1	1	2	2
15-2	1	2	3	13	1	2	3	16	1	2	3	19	1	2	4	14	1	1	2	3
15-3	1	2	3	20	1	1	2	11	1	2	3	12	1	1	2	12	0	0	0	0
15-4	0	0	0	0	0	1	1	2	1	2	3	12	1	2	4	12	0	0	0	0
Moyennes	0.54	1.23	1.91	10.60	0.46	0.89	1.46	7.83	0.54	1.03	1.60	7.97	0.54	1.11	1.86	9.46	0.26	0.51	0.77	2.63

Données diverses pour la population des déblais de mine (après huit semaines de mise en culture) (*Hedysarum pallidum* Desf.)

p.p.m. Sb	0				5				10				20				40			
	individus	poids sec (mg)	Nb. ramif. rac.	Nb. ramif. tige	Nb. feuilles etiol.	poids sec (mg)	Nb. ramif. rac.	Nb. ramif. tige	Nb. feuilles etiol.	poids sec (mg)	Nb. ramif. rac.	Nb. ramif. tige	Nb. feuilles etiol.	poids sec (mg)	Nb. ramif. rac.	Nb. ramif. tige	Nb. feuilles etiol.	poids sec (mg)	Nb. ramif. rac.	Nb. ramif. tige
1-1	8.20	0	0	2	44.70	14	2	7	10.20	0	0	0	4.20	0	0	1	6.10	0	0	0
1-2	0.00	0	0	0	7.30	0	0	0	11.00	0	0	4	8.40	5	2	1	17.70	0	0	0
1-3	2.40	0	0	3	10.00	0	0	2	22.80	1	2	15	10.40	2	0	0	0.00	0	0	0
1-4	32.40	6	1	8	0.00	0	0	0	18.40	10	5	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
1-5	30.20	1	2	8	7.60	0	0	0	0.00	0	0	0	40.00	9	4	6	0.00	0	0	0
2-1	6.60	1	4	5	6.00	0	0	0	0.00	0	0	0	21.90	0	1	8	28.50	3	2	5
2-2	20.10	18	4	12	16.90	9	1	9	26.90	8	2	8	20.80	0	1	8	28.10	0	1	13
2-3	0.00	0	0	0	32.30	9	2	6	13.90	2	2	14	14.90	0	2	9	23.20	3	3	15
2-4	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	24.40	2	0	4	27.30	2	6	18	28.20	2	2	7
2-5	17.50	4	2	1	0.00	0	0	0	32.30	15	2	12	18.90	0	0	8	14.70	0	2	9
2-6	22.10	1	1	5	16.20	0	0	3	19.90	0	0	0	23.50	5	2	15	8.40	0	0	3
2-7	9.50	1	0	1	26.20	0	2	9	4.00	0	0	5	0.00	0	0	0	6.10	0	0	3
3-1	20.50	2	1	8	26.50	0	0	1	6.50	1	0	0	7.50	1	0	1	26.30	3	0	1
3-2	21.70	1	1	7	31.80	0	1	11	18.10	0	0	3	4.70	0	0	1	8.50	0	0	1
3-3	12.10	0	1	7	37.50	5	0	3	36.20	14	4	16	15.10	0	0	0	27.90	0	2	8
3-4	17.10	0	4	2	11.60	0	1	1	11.30	0	0	1	30.20	0	0	0	21.90	4	0	3
3-5	18.10	0	3	7	0.00	0	0	0	27.40	3	1	16	10.60	0	1	7	28.70	4	2	11
3-6	26.40	0	0	6	29.70	0	2	8	1.70	0	1	0	0.00	0	0	0	22.30	1	2	11
3-7	10.80	0	0	2	41.50	8	0	4	19.10	0	1	9	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
3-8	39.70	9	1	9	0.00	0	0	0	16.30	1	1	9	1.00	0	0	1	0.00	0	0	0
4-1	8.80	0	0	1	34.80	4	3	7	24.60	0	0	2	27.70	0	0	8	41.10	4	1	1
4-2	8.00	0	0	1	12.40	3	0	1	20.80	0	1	9	0.00	0	0	0	9.10	0	0	2
4-3	8.00	3	2	8	10.50	0	0	2	17.50	0	3	10	17.00	0	2	12	18.20	0	0	5
4-4	1.20	1	0	5	7.00	0	0	1	20.90	0	2	5	17.90	2	0	7	8.40	0	0	1
4-5	10.30	5	1	11	2.50	0	0	0	3.00	0	0	2	38.10	0	3	17	6.20	0	0	3
4-6	29.20	7	1	6	42.60	10	4	6	0.00	0	0	0	25.90	0	2	16	20.00	1	1	12
4-7	18.40	6	0	3	18.90	6	0	2	8.00	0	0	3	29.10	11	2	14	0.00	0	0	0
4-8	22.90	2	5	10	7.30	0	0	2	19.30	0	1	1	0.00	0	0	0	6.90	0	1	7
4-9	16.60	0	0	4	6.80	0	0	1	19.70	0	3	7	16.00	0	2	7	19.90	0	5	1
5-1	20.10	0	1	0	18.60	1	0	5	24.20	1	0	9	6.30	0	0	5	5.20	0	0	3
5-2	4.20	0	0	3	19.00	1	0	0	28.00	12	6	28	0.00	0	0	0	8.80	0	1	10
5-3	3.00	0	0	1	35.80	1	3	10	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	5.80	0	0	3
5-4	27.30	3	5	7	10.60	0	1	5	0.00	0	0	0	7.60	0	1	2	0.00	0	0	0
5-5	7.80	0	0	0	21.60	0	6	17	2.80	0	0	4	21.30	4	2	6	0.00	0	0	0
5-6	6.50	0	0	4	5.90	1	0	0	14.50	4	2	7	15.40	0	0	7	1.00	0	2	1
Moyennes	14.51	2.03	1.14	4.49	17.15	2.06	0.80	3.51	14.96	2.11	1.11	5.80	13.76	1.17	0.94	5.29	12.78	0.71	0.77	3.97

Données diverses pour la population témoin (après 8 semaines de mise en culture) (*Hedysarum pallidum* Desf.)

p.p.m. Sb	0				5				10				20				40			
individus	poids sec (mg)	Nb. ramif. rac.	Nb. ramif. tige	Nb. feuilles etiol.	poids sec (mg)	Nb. ramif. rac.	Nb. ramif. tige	Nb. feuilles etiol.	poids sec (mg)	Nb. ramif. rac.	Nb. ramif. tige	Nb. feuilles etiol.	poids sec (mg)	Nb. ramif. rac.	Nb. ramif. tige	Nb. feuilles etiol.	poids sec (mg)	Nb. ramif. rac.	Nb. ramif. tige	Nb. feuilles etiol.
6-1	6.50	0	1	8	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
6-2	9.50	0	2	3	34.80	12	5	23	26.90	0	0	3	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
6-3	16.00	2	0	7	22.20	1	2	14	7.80	2	0	9	20.90	0	2	9	0.00	0	0	0
6-4	8.60	0	0	1	22.80	3	6	10	14.60	1	2	13	7.60	0	0	0	24.70	2	3	11
7-1	0.40	0	0	1	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	32.60	8	5	19	0.00	0	0	0
7-2	0.00	0	0	0	33.80	5	3	19	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
7-3	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	22.40	4	3	17	31.50	0	4	13	8.10	0	0	10
8-1	10.90	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
8-2	9.80	0	0	6	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
8-3	7.60	0	0	1	13.80	0	1	6	6.50	0	0	5	28.40	1	0	8	0.00	0	0	0
8-4	19.50	0	0	0	19.10	0	3	10	24.90	1	1	13	23.60	0	0	3	0.00	0	0	0
9-1	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	7.30	0	0	2	22.40	4	2	7	38.10	0	5	8
9-2	15.90	2	1	6	8.90	0	1	9	31.70	0	0	9	15.00	0	2	10	14.90	3	2	11
9-3	17.70	4	1	7	35.60	7	3	8	29.50	3	0	5	13.50	0	0	5	0.00	0	0	0
10-1	18.20	0	2	6	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	22.40	7	2	5	0.00	0	0	0
10-2	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	2.00	0	0	3	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
10-3	3.60	0	2	1	6.60	0	0	3	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
11-1	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	18.90	0	2	6	7.10	0	2	7
11-2	11.10	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	8.30	0	3	5	0.00	0	0	0
11-3	23.80	0	0	5	0.00	0	0	0	15.30	0	3	9	38.80	9	4	19	0.00	0	0	0
11-4	34.20	1	1	4	31.60	0	5	12	32.30	1	2	12	13.10	0	4	10	0.00	0	0	0
12-1	9.30	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
12-2	9.20	0	1	0	22.50	10	1	11	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
12-3	5.60	0	0	0	0.00	0	0	0	19.90	0	4	11	22.30	6	2	6	0.00	0	0	0
13-1	1.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	27.10	7	2	6	0.00	0	0	0
13-2	0.00	0	0	0	1.00	0	3	2	23.10	1	3	18	0.00	0	0	0	24.80	4	2	5
13-3	19.60	1	3	15	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
14-1	24.90	1	4	24	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
14-2	0.00	0	0	0	23.30	0	2	9	19.90	0	1	2	0.00	0	0	0	0.00	0	0	0
14-3	42.70	8	8	30	0.00	0	0	0	19.40	0	4	16	0.00	0	0	0	3.00	0	0	2
14-4	22.80	0	3	3	3.40	0	0	0	0.00	0	0	0	32.80	1	3	15	0.00	0	0	0
15-1	14.30	0	2	11	6.70	0	0	4	0.00	0	0	0	26.50	5	1	15	2.40	0	0	2
15-2	11.00	2	0	1	25.50	2	2	10	15.00	0	2	15	25.10	4	2	2	11.40	0	0	3
15-3	26.40	0	1	7	22.40	1	0	0	13.20	1	0	3	23.00	0	0	8	0.00	0	0	0
15-4	0.00	0	0	0	0.30	0	0	1	33.50	10	3	7	17.10	0	0	2	0.00	0	0	0
Moyennes	11.43	0.60	0.91	4.20	9.55	1.17	1.06	4.31	10.43	0.69	0.80	4.91	13.45	1.49	1.14	4.94	3.84	0.26	0.40	1.69

ANNEXE 11 (suite)

Estérases (EST) : 5.4 mM de 1-naphtyl-acétate, 5 mM de 2-naphtyl-acétate, 3.3 mM de Fast Blue RR, acétone, tampon phosphate de Na 0.3 M pH 6.5.

Le Fast Blue RR est mélangé avec le tampon phosphate puis versé sur le gel. On ajoute ensuite sur le tout le 1-naphtyl-acétate mélangé auparavant au 2-naphtyl-acétate et 1 ml d'acétone. L'ensemble est remué et placé au four à 37°C, à l'obscurité.

Glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) : 30 mM d'acide aspartique, 14 mM d'acide 1-cétoglutarique, 0.1 mM de 5-P-Pyridoxal, 13.3 mM de Fast Blue BB, tampon Tris HCl 0.1 M pH 8.5.

Tous les composés sont mélangés ensemble, au moment de la révélation, puis versés sur le gel. Le tout est remué et mis à l'étuve à 20°C, à l'obscurité.

ANNEXE 11

Solutions de révélation des systèmes enzymatiques

Alcool déshydrogénase (ADH) : 170 mM d'éthanol; 0.35 mM de NAD, 5 mM de $MgCl_2$; 0.5 mM de MTT, 0.065 mM de PMS, tampon Tris HCl 0.1 M pH 8.5.

Le NAD est mélangé avec 24.5 ml de tampon Tris HCl, au moment de la révélation, puis versé sur le gel. On verse ensuite, dans l'ordre : 0.5 ml de PMS, 1 ml de MTT, 0.5 ml de $MgCl_2$, 0.25 ml d'éthanol. Le tout est remué puis mis à 37° à l'obscurité.

Malate déshydrogénase (MDH) : 100 mM de malate de Na, 0.35 mM de NAD, 5mM de $MgCl_2$, 0.5 mM de MTT, 0.07 mM de PMS, tampon Tris HCl 0.1 M pH 8.5.

Le malate de Na et le NAD sont mélangés dans 25 ml de tampon, au moment de la révélation, et versés sur le gel. On ajoute ensuite le $MgCl_2$, le MTT, puis le PMS. Le tout est mis à 37° à l'obscurité, après avoir été remué.

Isocitrate déshydrogénase (ICD) : 12 mM d'isocitrate de Na, 0.4 mM de NADP, 6g/l de PVP 40T, 5mM de $MgCl_2$, 0.5 mM de MTT, 0.07 mM de PMS, tampon Tris HCl 0.1 M pH 8.5.

Au moment de la révélation, on mélange l'isocitrate de Na, le NADP, le PVP dans 25 ml de tampon qu'on verse sur le gel, puis on ajoute le $MgCl_2$, le PMS et enfin le MTT, on remue et on met le tout au four à 37°, à l'obscurité.

Peroxydases (POX) : 2.4 mM de 3-amino-9-éthylcarbazole, 50 ml/l de diméthylformamide (pour dissoudre le 3-amino-9-éthylcarbazole), tampon acétate 0.05 M pH 5, Gaïcol 1%, $CaCl_2$ 0.1 M, 5 ml/l de H_2O_2 à 30 vol.

Le Gaïcol et le $CaCl_2$ sont mélangés dans 24 ml de tampon, au moment de la révélation puis versés sur le gel. On verse ensuite du 3-amino-9-éthylcarbazole mélangé auparavant au diméthylformamide. Le H_2O_2 est ajouté enfin sur le tout. L'ensemble est placé alors à l'étuve à 20°c, à l'obscurité, après avoir été remué.

Phosphoglucomutase (PGM) et Phosphogluco-isomérase (PGI) : Ces deux enzymes sont révélés ensemble : 2.5 mM de Fructose-6-P, 16 mM de Glucose-1-P, 0.15 mM de NADP, 5 mM de $MgCl_2$, 0.5 mM de MTT, 0.07 mM de PMS, 2.7 mM de Na_2EDTA , 2000 unités/l de Glucose-6-P-déshydrogénase, tampon Tris HCl 0.1 M pH 8.5.

On mélange le Fructose-6-P, le Glucose-1-P, le NADP, le Na_2EDTA avec 25 ml de tampon qu'on verse sur le gel. On ajoute ensuite, dans l'ordre, du PMS, du MTT, du $MgCl_2$ et 10 μ l de Glucose-6-P-déshydrogénase. On remue et on met au four à 37°c, à l'obscurité.

Reproduction et reliure :

ZARA
COPIE

77, rue du Cardinal Lemoine — 75005 PARIS

Tél. : (1) 46 34 74 62

Fax. : (1) 43 54 98 39

RÉSUMÉ

L'étude de l'action de l'antimoine sur la végétation d'une zone minière (Djebel Hamimat, Algérie) a mis en évidence une sélection sévère sur les divers groupements végétaux et des comportements différents des espèces végétales en présence du toxique : toxicophobes, indifférentes ou toxicophytes.

Le dosage de l'antimoine dans les feuilles de quelques plantes fait apparaître, en comparaison avec les teneurs en antimoine des sols, différents modes de tolérance vis-à-vis du métal : exclusion, accumulation ou même concentration. Les teneurs en antimoine déterminées pour certaines espèces végétales sont exceptionnellement élevées par rapport aux teneurs normales.

Des tests expérimentaux *in vitro*, sur milieu gélosé, réalisés avec un premier lot de germinations issues des semences de deux populations d'une espèce indifférente et accumulatrice, *Hedysarum pallidum* Desf., montrent que la population se développant sur des déblais de mine est plus adaptée à la présence d'antimoine dans le milieu que la population provenant d'un sol normal. La présence d'antimoine dans le milieu semble être à l'origine de l'apparition de néoformations sur les cotylédons de plusieurs germinations.

Des analyses enzymatiques réalisées sur un second lot de germinations provenant des mêmes populations mettent en évidence une importante variation électrophorétique et des différences entre les deux populations, dans la distribution et les fréquences de certaines bandes izoenzymatiques.

Les résultats des tests expérimentaux et des analyses enzymatiques laissent supposer une évolution de races tolérantes ou écotypes parmi les populations d'*Hedysarum pallidum* Desf.