

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Badji Mokhtar-Annaba
University



Université Badji Mokhtar
Annaba

FACULTE DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat

**Mécanismes d'action des polluants chimiques industriels
(engrais et NO_x) sur des bio-indicateurs de pollution
(Mousses et Lichens)**

Option: Toxicologie cellulaire

Présentée par :

M^{me} KHALDI Fadila

Directeur du thèse : Dr. BERREBBAH H.

Pr.Université de Annaba

Devant le jury :

Président : Dr. Djebar M. R.

Pr. Université de Annaba

Examineurs : Dr.Allioua Amel

M.C.Université d'Oran

Dr.Souiki Linda

M.C. Université de Guelma

-2012/2013-

الملخص

ان رفض المواد المختلفة غير مرغوب فيه في الجو ولا شك في أن التدهور البيئي الأكثر وضوحا من قبل البشر. لتسليط الضوء على و / أو قياس ما يترتب على هذا التدهور، واستخدام النباتات (مؤشرات بيولوجية) أمر ضروري. جزء من عملنا يقوم على دراسة سمية سماد مركب على استعمال واسع في مجال الزراعة : *NPKs*، على نوعين من النباتات الدنيا: الطحالب (*Leucodon sciuroides*) والأشنات (*Ramalina farinacea*). دراسة سمية هذه الأسمدة تم من خلال اجراء اختبارات بيوكيميائية، فسيولوجية وأنزيمية وباستخدام تقنية البولاروجرافي، تم دراسة تأثير *NPKs* على التمثيل الضوئي و التنفسي.

وقد أظهرت هذه التجارب أن الطحالب والأشنات تقوم بالتغيرات البيوكيميائية (البرولين والبروتين والسكريات الكلية) والفسيولوجية (الكلوروفيل *A*، *B* و *A + B*)، والأنزيمية (*GST*، *GSH*، *APX*، *MDA*، *CAT*)، و الاضطرابات الأيضية (التمثيل الضوئي والتنفس).

والجانب الآخر من عملنا يتضمن زراعة عينات نوعين من الأشنات (*Ramalina farinacea*) و (*Xanthoria parietina*) في مواقع مختلفة، وخلال سنتين (2008 و 2009)، للكشف عن التأثير المحتمل لملوثات الهواء السامة الملقاة بصورة رئيسية من قبل مركب فرتيال.

وقد كشفت هذه الدراسة عن اضطرابات في المعايير البيوكيميائية (البرولين والبروتين والسكريات الكلية) والفسيولوجية (الكلوروفيل *A*، *B* و *A + B*) والاضطرابات الأنزيمية (*GST*، *GSH*)، وكذلك على التمثيل الضوئي و التنفس على حد سواء، لكلا النوعين من الأشنات.

الكلمات المفتاحية: *NPKs*، الطحالب، الأشنات، التنفس والتمثيل الضوئي، الملوثات الهوائية، السمية، فرتيال.

Abstract

The inconvenient rejection of diverse substances in the atmosphere is undoubtedly the most obvious environmental degradation by humans. To highlight and / or measure the consequences of this degradation, the use of plant bioindicators is compulsory. A part of our work consists of toxicological study of a complex fertilizer widely used in agriculture: *NPKs*, on two species of lower plants: mosses (*Leucodon sciruooides*) and lichens (*Ramalina farinacea*).

The toxicity of this fertilizer is looked through the determination of biochemical, physiological and enzymatic parameters and using the polarographic technique, we tested the effect of the *NPKs* on their photosynthetic and respiratory metabolism.

These tests have shown that mosses and lichens present different changes : biochemical (proline, protein and total sugars), physiological (Chlorophylls *a*, *b* and *a + b*) and enzymatic (GSH, GST, APX, CAT, MDA) and metabolic disturbances (photosynthesis and respiration).

The other aspect of our work consists in transplanting the species samples of lichens (*Ramalina farinacea*) and (*Xanthoria parietina*) at different sites and during two years (2008 and 2009), to detect the possible toxic effect of atmospheric pollutants rejected mainly by the complex FERTIAL.

This toxicity has led to disruption of different parameters: biochemical (proline, protein and total sugars), physiological (Chlorophylls *a*, *b* and *a + b* and FW / DW) and enzymatic (GSH, GST), and metabolic disturbances (respiration and photosynthesis) of both species of lichens.

Keywords: NPKs, Mosses, Lichens, polarography, atmospheric pollutants, toxicity, FERTIAL.

Résumé

Le rejet intempestif de substances diverses dans l'atmosphère constitue sans aucun doute la plus évidente des dégradations de l'environnement par l'homme. Pour mettre en évidence et/ou mesurer les conséquences de ces dégradations, l'utilisation des bioindicateurs végétaux s'avère incontournable.

Une partie de notre travail consiste en étude toxicologique d'un engrais complexe largement utilisé en agriculture : le **NPKs**, sur deux espèces de végétaux inférieurs : les mousses (***Leucodon sciuroides***) et les lichens (***Ramalina farinacea***).

La toxicité de cet engrais est recherchée à travers le dosage des paramètres biochimiques, physiologiques et enzymatiques et grâce à la technique polarographique ,nous avons testé l'effet du **NPKs** sur leur métabolisme respiratoire et photosynthétique.

Ces tests ont montré que les mousses et les lichens présentent des modifications biochimiques (proline, protéines et sucres totales), physiologiques (Chlorophylles *a,b* et *a+b*) et enzymatiques (GSH, GST, APX, CAT, MDA), ainsi que des perturbations métaboliques (respiration et photosynthèse).

L'autre aspect de notre travail consiste à transplanter des échantillons des espèces de lichens (***Ramalina farinacea***) et (***Xanthoria parietina***) au niveau des différents sites et pendant deux années (2008 et 2009), afin de détecter l'éventuel effet toxique des polluants atmosphériques rejetés principalement par le complexe **FERTIAL**.

Cette toxicité s'est traduite par des perturbations des paramètres biochimiques (proline, protéines et sucres totales), physiologiques (Chlorophylles *a,b* et *a+b* et MF/MS) et enzymatiques (GSH, GST), ainsi que des perturbations métaboliques (respiration et photosynthèse) chez les deux espèces de lichens.

Mots clés : NPKs, Mousses ,Lichens, Polarographie, Polluants atmosphériques, Toxicité, FERTIAL.

*« On ne peut pas croire à la moitié de ce qu'on entend raconter,
on ne peut pas croire à la plupart des choses qu'on lit,
mais on peut croire à tout ce que l'on fait... »*

Du vent dans les rêves

Ellen MacArthur

A mes parents
A mes sœurs et frères
A mon marie
A mes enfants
Anes, Amjed & Hosna Hanine

« Un hommage respectueux »

**A Madame le Professeur
Houria BERREBBAH**

Qui a inspiré l'idée du sujet de ce mémoire
et pour le temps et l'intérêt qu'elle a consacré à mon travail .
Sa bienveillance, ses conseils et sa grande expérience de chercheur
m'ont beaucoup appris. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Fadila

Remerciements

*Tout d'abord je remercie sincèrement Monsieur le Professeur **Mohamed Réda Djebbar**, pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire de Toxicologie cellulaire et qui a accepté de présider mon jury, je voudrais qu'il retrouve ici le témoignage de mon profond respect.*

*Je n'ai pas de mots pour remercier une seconde fois Madame **Houria Berrebbah**, Professeur à l'Université Badji Mokhtar, Annaba, qui a dirigé ce travail de recherche. Je lui exprime ma reconnaissance pour son appui et pour la confiance qu'elle m'a toujours accordé, et grâce à la quelle j'ai bénéficié d'une grande liberté dans mon travail.*

*J'exprime toute ma gratitude envers Madame **Amel Allioua**, Maitre de conférence de l'Université d'Oran, qu'elle me fait acceptant de participer au jury, je lui exprime ma profonde reconnaissance.*

*J'adresse à Melle **Linda Soiuki**, Maitre de conférence de l'Université de Guelma, toute ma reconnaissance pour avoir accepté d'examiner mon travail, qu'elle trouve ici l'expression de toute ma gratitude.*

Ma reconnaissance s'adresse également à ma petite famille : Mon Marie « Abdelhak », Mon fils « ANES » et Mes jumeaux Amjed et Hosna Hanine et à ma grande famille qui m'ont toujours soutenu et encouragé.

*Un grand merci pour tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de cette thèse, en particulier le personnel de **FERTIAL**, je pense notamment à Mr Ghoul, Chef service de l'unité nitrate ainsi qu'à Mr Ritima, responsable de l'unité environnement de DRH.*

Figure	Titre	Page
1	Principaux effets des polluants chez les végétaux-Interférence de divers paramètres	5
2	Cladogramme des Bryophytes	11
3	Les différentes sous classes des Mousses	13
4	<i>Leucodon sciuroides</i>	14
5	<i>Ramalina farinacea</i>	18
6	L'électrode à oxygène	26
7	Effets de NPKs sur les variations du taux de proline chez <i>Leucodon sciuroides</i> (3j)	27
8	Effets de NPKs sur les variations du taux de proline chez <i>Ramalina farinacea</i> (3j)	28
9	Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes des sucres totaux chez <i>Leucodon sciuroides</i> (3j)	29
10	Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes des sucres totaux chez <i>Ramalina farinacea</i> (3j)	29
11	Variations des teneurs des chlorophylles (a,b et a+b) chez <i>Leucodon sciuroides</i> en fonction des concentrations de NPKs (3j)	32
12	Variations des teneurs des chlorophylles (a,b et a+b) chez <i>Ramalina farinacea</i> en fonction des concentrations de NPKs(3j)	33
13	Effets de NPKs sur les variations du taux de glutathion chez <i>Leucodon sciuroides</i> (3j)	34
14	Effets de NPKs sur les variations du taux de glutathion chez <i>Ramalina farinacea</i> (3j)	34
15	Effets de NPKs sur les variations de l'activité de glutathion-S-transférase chez <i>Leucodon sciuroides</i> (3j)	35
16	Effets de NPKs sur les variations de l'activité de glutathion-S-transférase chez <i>Ramalina farinacea</i> (3j)	36
17	Variations de l'activité de la catalase de <i>Leucodon sciuroides</i> traité avec différentes concentrations de NPKs(3j)	37
18	Variations de l'activité de la catalase de <i>Ramalina farinacea</i> traité avec différentes concentrations de NPKs (3j)	38
19	Variations de l'activité de l'ascorbat peroxydase de <i>Leucodon sciuroides</i> traité avec différentes concentrations de NPKs(3j)	39
20	Variations de l'activité de l'ascorbat peroxydase de <i>Ramalina farinacea</i> traité avec différentes concentrations de NPKs(3j)	40
21	Effets de NPKs sur les variations des taux de malondialdéhyde chez <i>Leucodon sciuroides</i> (3j)	41
22	Effets de NPKs sur les variations des taux de malondialdéhyde chez <i>Ramalina farinacea</i> (3j)	42
23	Effet de NPKs sur le métabolisme photosynthétique chez <i>Ramalina farinacea</i> (3j)	43
24	Effet de NPKs sur le métabolisme photosynthétique chez <i>Leucodon sciuroides</i> (3j)	44
25	Effet de NPKs sur le métabolisme respiratoire chez <i>Ramalina farinacea</i> (3j)	45
26	Effet de NPKs sur le métabolisme respiratoire chez <i>Leucodon sciuroides</i> (3j)	46
27	Effets de NPKs sur les variations du taux de proline chez <i>Leucodon sciuroides</i> (7j)	47
28	Effets de NPKs sur les variations du taux de proline chez <i>Ramalina farinacea</i> (7j)	48
29	Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes des sucres totaux chez <i>Leucodon sciuroides</i> (7j)	49
30	Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes des sucres totaux chez <i>Ramalina farinacea</i> (7j)	50

31	Variations du taux de la chlorophylles(<i>a,b</i> et <i>a+b</i>) chez <i>Ramalina farinacea</i> en fonction des concentrations de NPKs(7j)	52
32	Variations du taux de la chlorophylles(<i>a,b</i> et <i>a+b</i>) chez <i>Leucodon sciuroides</i> en fonction des concentrations de NPKs(7j)	53
33	Effets de concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux de glutathion chez <i>Leucodon sciuroides</i> (7j)	54
34	Effets de concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux de glutathion chez <i>Ramalina farinacea</i> (7j)	55
35	Effets de concentrations croissantes de NPKs sur les variations de l'activité de glutathion-S-transférase chez <i>Leucodon sciuroides</i> (7j)	56
36	Effets de concentrations croissantes de NPKs sur les variations de l'activité de glutathion-S-transférase chez <i>Ramalina farinacea</i> (7j)	57
37	Variations de l'activité de la catalase de <i>Leucodon sciuroides</i> traité avec différentes concentrations de NPKs (7j)	58
38	Variations de l'activité de la catalase de <i>Ramalina farinacea</i> traité avec différentes concentrations de NPKs (7j)	59
39	Variations de l'activité de l'ascorbat peroxydase de <i>Leucodon sciuroides</i> traité avec différentes concentrations de NPKs(7j)	60
40	Variations de l'activité de l'ascorbat peroxydase de <i>Ramalina farinacea</i> traité avec différentes concentrations de NPKs(7j)	61
41	Effets de concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux malondialdéhyde chez <i>Leucodon sciuroides</i> (7j)	62
42	Effets de concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux malondialdéhyde chez <i>Ramalina farinacea</i> (7j)	63
43	Effet de NPKs sur le métabolisme photosynthétique chez <i>Ramalina farinacea</i> (7j)	64
44	Effet de NPKs sur le métabolisme photosynthétique chez <i>Leucodon sciuroides</i> (7j)	65
45	Effet de NPKs sur le métabolisme respiratoire chez <i>Ramalina farinacea</i> (7j)	66
46	Effet de NPKs sur le métabolisme respiratoire chez <i>Leucodon sciuroides</i> (7j)	67
47	Températures moyennes mensuelles (°C), enregistrées à Annaba en 2008	88
48	Températures moyennes mensuelles (°C), enregistrées à Annaba en 2009	88
49	Diagramme ombrothermique de GAUSSEN de la région d'Annaba	89
50	Précipitations moyennes mensuelles (mm) enregistrées à Annaba en 2008 et 2009	90
51	Hygrométries (%) moyennes mensuelles enregistrées à Annaba en 2008 et 2009	91
52	La rose des vents (Annaba d'après les Salines le centre météorologique de l'aéroport)	92
53	Représentation de la zone d'échantillonnage et la zone de transplantation par rapport au complexe des fertilisants « FERTIAL» de ANNABA	95
54	Carte Topographique de Séraïdi N° .3-4(échelle :1/25000(INC))	96
55	Variations de la teneur en proline chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des différents sites (Année2008).	98

56	Variations de la teneur en proline chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des différents sites (Année 2009).	99
57	Variations des teneurs des protéines totales chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des différents sites (Année 2008)	100
58	Variations des teneurs des protéines totales chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des différents sites (Année 2009)	101
59	Variations des teneurs des sucres totaux chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des différents sites (Année 2008)	102
60	Variations des teneurs des sucres totaux chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des différents sites (Année 2009)	103
61	Variations du taux MF/MS chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des différents sites (Année 2008)	104
62	Variations du taux MF/MS chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des différents sites (Année 2009)	105
63	Variations du taux de GSH chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des différents sites (Année 2008)	106
64	Variations du taux de GSH chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des différents sites (Année 2009)	107
65	Variations de l'activité de GST chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des différents sites (Année 2008)	108
66	Variations de l'activité de GST chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des différents sites (Année 2009)	109
67	Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des lichens transplantés en 2008	112
68	Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des lichens transplantés en 2009	113
69	Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des lichens transplantés en 2008	114
70	Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des lichens transplantés en 2009	115
71	L'emplacement des stations de mesure du réseau SAMA SAFIA	118
72	Réseau de contrôle automatique de la pollution atmosphérique	120
73	<i>Ramalina farinacea</i>	122
74	<i>Xanthoria parietina</i>	123
75	Localisation géographique du site d'échantillonnage « Taoura »	125
76	Comparaison du taux de la proline chez les deux espèces lichéniques (Année 2008)	127
77	Comparaison du taux de proline chez les deux espèces lichéniques (Année 2009)	128
78	Comparaison des teneurs en protéines totales chez les deux espèces lichéniques (Année 2008)	129
79	Comparaison des teneurs en protéines totales chez les deux espèces lichéniques (Année 2009)	130
80	Comparaison des teneurs en sucres totaux chez les deux espèces lichéniques (Année 2008)	131
81	Comparaison des teneurs en sucres totaux chez les deux espèces lichéniques (Année 2009)	132

82	Variations globales du rapport MF/MS chez les deux espèces lichéniques (Année 2008)
83	Variations globales du rapport MF/MS chez les deux espèces lichéniques (Année 2009)
84	Comparaison des taux de GSH chez les deux espèces lichéniques (Année 2008)
85	Comparaison des taux de GSH chez les deux espèces lichéniques (Année 2009)
86	Comparaison des activités de GST chez les deux espèces lichéniques (Année 2008)
87	Comparaison des activités de GST chez les deux espèces lichéniques (Année 2009)
88	Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique de l'espèce <i>Ramalina farinacea</i> (Année 2008)
89	Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique de l'espèce <i>Xanthoria parietina</i> (Année 2008)
90	Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique de l'espèce <i>Ramalina farinacea</i> (Année 2009)
91	Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique de l'espèce <i>Xanthoria parietina</i> (Année 2009)
92	Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire de l'espèce <i>Ramalina farinacea</i> (Année 2008)
93	Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire de l'espèce <i>Xanthoria parietina</i> (Année 2008)
94	Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire de l'espèce <i>Ramalina farinacea</i> (Année 2009)
95	Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire de l'espèce <i>Xanthoria parietina</i> (Année 2009)
96	Présentation schématique des taxons bioaccumulateurs des polluants et des paramètres régissant les phénomènes d'accumulation
97	Situation géographique du complexe FERTIAL
98	Moyennes d'Ammoniac Résiduel de l'unité NPK pendant l'année 2008
99	Moyennes d'Ammoniac Résiduel de l'unité NPK pendant l'année 2009
100	Moyennes des rejets de poussières de l'unité NPK pendant l'année 2008
101	Moyennes des rejets de poussières de l'unité NPK pendant l'année 2009
102	Moyennes des rejets de NOx de l'unité Ammoniac pendant l'année 2008
103	Moyennes des rejets de NOx de l'unité Ammoniac pendant l'année 2008

Tableau	Titre	Page
1	Comparaison entre lichens et végétaux supérieurs.	16
2	Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes de protéines totales chez <i>Leucodon sciuroides 3J</i>	30
3	Effet de NPKs sur les variations des teneurs moyennes de protéines totales chez <i>Ramalina farinacea 3J</i>	31
4	Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes de protéines totales chez <i>Leucodon sciuroide 7J</i>	51
5	Effet de NPKs sur les variations des teneurs moyennes de protéines totales chez <i>Ramalina farinacea 7J</i>	51
6	Températures moyennes mensuelles (°C), enregistrées à Annaba en 2008	87
7	Températures moyennes mensuelles (°C), enregistrées à Annaba en 2009	88
8	Précipitations moyennes mensuelles (mm) enregistrées à Annaba en 2008 et 2009	89
9	Hygrométries (%) moyennes mensuelles enregistrées à Annaba en 2008 et 2009	90
10	Vitesse moyennes mensuelles du vent (Km/h) enregistrées à Annaba en 2008 et 2009	91
11	Variations de la teneur en Chlorophylle (<i>a, b, a+b</i>) chez <i>Ramalina Farinacea</i> au niveau des 5 sites (Année 2008).	110
12	Variations de la teneur en Chlorophylle (<i>a, b, a+b</i>) chez <i>Ramalina Farinacea</i> au niveau des 5 sites (Année 2009).	111
13	Concentrations des polluants atmosphériques au niveau de 4 stations	119
14	Variations de la teneur en Chlorophylle (<i>a,b et a+b</i>) chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des 4 sites (2008).	139
15	Variations de la teneur en Chlorophylle (<i>a,b et a+b</i>) chez <i>Xanthoria parietina</i> au niveau des 4 sites (2008).	140
16	Variations de la teneur en Chlorophylle (<i>a,b et a+b</i>) chez <i>Ramalina farinacea</i> au niveau des 4 sites (2009).	141

17	Variations de la teneur en Chlorophylle (<i>a</i> , <i>b</i> et <i>a+b</i>) chez <i>Xanthoria parietina</i> au niveau des 4 sites (2009).	142
18	Capacités de production du complexe Fertial	186
19	Rejets avant le projet de la banque mondiale	187
20	Rejets après le projet de la banque mondiale	187
21	Rejets des autres filiales de Fertial	187
22	Normes algériennes des rejets atmosphériques	190
23	Valeurs limites et objectifs de qualité de l'air	191
24	Seuils d'information et d'alerte	192
25	Directives sur la qualité de l'air ambiant	192
26	Normes Européennes	193
27	Normes proposés par l'OMS	193
28	Normes suisses	193
29	Concentrations ambiantes	194
30	Normes U.S.A	194
31	Normes françaises de pollution	194
32	Seuils d'informations gradués	194
33	Recommandations des polluants secondaires	195

Table des matières

المخلص

Abstract

Résumé

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Table des matières

Chapitre I

Mise en évidence de l'effet de l'engrais « NPKs » sur les mousses et les lichens

I.Introduction	1
1. Généralités sur l'engrais NPK.....	6
1.1.Histoire et rôle.....	6
1.2.Applications.....	7
2.Les espèces bio-indicatrices.....	7
Objectifs.....	10
But de travail.....	10
II.Matériel et méthodes	11
1.Matériel chimique.....	11
2 .Matériel biologique.....	11
2.1.Les mousses.....	11
2.1.1. Caractères généraux des Bryophytes.....	12
2.1.2. Morphologie et physiologie.....	12
2.1.3. Classification.....	13
2.1.4. Mousses, environnement et pollution.....	13
2.1.5. L'espèce de Mousse choisie.....	14
2.2.Les lichens.....	15
2.2.1.Généralités.....	15
2.2.2.Historique.....	15
2.2.3.Morphologie et physiologie.....	16
2.2.4.Propriétés.....	17
2.2.5.Utilisations de lichens comme bio-indicateurs.....	17
2.2.6.L'espèce de lichen choisie.....	18
3.Méthodes.....	19
3.1.Méthode de préparation du milieu de culture.....	19
3.2.Méthodes de dosage.....	19
3.2.1.Dosage de la chlorophylle.....	19
3.2.2.Dosage de la proline.....	20
3.2.3.Dosage des proteines totales.....	20
3.2.4.Dosage des sucres totaux.....	21
3.2.5.Dosage enzymatiques.....	21
3.2.5.1.Préparation de l'extrait enzymatique.....	21
3.2.5.2. Dosage de l'activité Ascorbate-peroxydases (APX).....	22

3.2.5.3. Dosage de l'activité catalase (CAT).....	22
3.2.5.4. Dosage de l'activité glutathion-S-transférase(GST).....	23
3.2.5.5. Dosage de glutathion (GSH).....	23
3.2.5.6. Dosage de malondialdéhyde (MDA).....	24
4. Etude du métabolisme respiratoire.....	25
5. Etude du métabolisme photosynthétique.....	26
6. Etude statistique.....	26
III. Résultats	27.
1. Traitement 3 jours.....	27
1.1. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux de proline.....	27
1.2. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les teneurs moyennes de sucres totaux.....	28
1.3. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les teneurs moyennes de protéines totale.....	30
1.4. Effets de NPKs sur les variations des teneurs des chlorophylles (<i>a,b</i> et <i>a+b</i>).....	32
1.5. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le taux de GSH.....	34
1.6. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur l'activité GST.....	35
1.7. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur l'activité CAT.....	37
1.8. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur l'activité APX.....	39
1.9. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le taux de MDA.....	41
1.10. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le métabolisme photosynthétique et respiratoire des mousses et des lichens.....	42
1.10.1. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le métabolisme photosynthétique des mousses et des lichens.....	42
1.10.2. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le métabolisme respiratoire des mousses et des lichens.....	44
2. Traitement 7 jours.....	47
2.1. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux de proline...	47
2.2. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les teneurs moyennes de sucres totaux.....	49
2.3. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les teneurs moyennes de protéines totales.....	50
2.4. Effets de NPKs sur les variations des teneurs des chlorophylles (<i>a,b</i> et <i>a+b</i>).....	52
2.5. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le taux de GSH.....	54
2.6. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur l'activité GST.....	56
2.7. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur l'activité CAT.....	58
2.8. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur l'activité APX.....	60
2.9. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le taux de MDA.....	62
2.10. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le métabolisme photosynthétique et respiratoire des mousses et des lichens.....	64
2.10.1. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le métabolisme photosynthétique des mousses et des lichens.....	64

2.10.2.Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le métabolisme respiratoire des mousses et des lichens.....	66
--	----

IV.Discussion.....	68
---------------------------	-----------

Chapitre II

Les lichens ,bio-indicateurs de la pollution atmosphérique dans la région de Annaba

1.Introduction.....	83
2.Généralités sur les lichens.....	85
3.Morphologie.....	86
4.Caractéristiques de la zone d'étude(Annaba).....	87
4.1.Localisation géographique.....	87
4.2.Données climatiques.....	87
4.2.1.Températures.....	87
4.2.2.Les précipitations.....	89
4.2.3.L'humidité.....	90
4.2.4.Le vent.....	91
But de travail.....	93

Partie I

1.Technique de transplantation des lichens.....	94
1.1.Historique.....	94
1.2.Durée des transplantations.....	94
1.3.Stratégie et lieux de transplantation.....	94
1.4.Récolte de l'espèce lichénique.....	96
2.Estimation de la pollution atmosphérique.....	97
2.1.Choix des sites d'échantillonnage.....	97
2.2.Technique de transplantation.....	97
2.3.Dosage du rapport MF/MS.....	97
3.Résultats.....	98
3.1.Effets de la pollution atmosphérique sur les paramètres biochimiques des lichens.....	98
3.1.1.Variations de la teneur en proline.....	98
3.1.2.Variations des teneurs en proteines totales.....	100
3.1.3.Variations des teneurs en sucres totaux.....	102
3.1.4.Variations du taux MF/MS.....	104
3.1.5.Variations du taux de GSH.....	106
3.1.6.Variations de l'activité GST.....	108
3.1.7.Variations des teneurs en chlorophylles (a,b et a+b).....	110
3.2.Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des lichens transplantés.....	112

3.3.Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des lichens transplantés.....	114
---	-----

Partie II

1.Comparaison des thalles transplantés à différentes distances.....	116
1.1.Durée de transplantation.....	116
1.2. Le réseau de surveillance de l'air de la ville de Annaba « SAMA SAFIA ».....	116
1.2.1.Localisation des stations de mesure.....	117
1. 2.2.Les objectifs du réseau « SAMA SASIA ».....	118
1.3.Concentrations des polluants dans l'atmosphère au niveau de 4 stations.....	119
2.Automatisation des contrôles.....	120
3.Stratégie d'échantillonnage.....	121
4. L'espèce de lichen choisie.....	122
5.Choix du site d'échantillonnage.....	124
5.1.Localisation géographique.....	124
5.2.Climat.....	124
6.Choix des lieux de transplantation.....	126
7.Résultats.....	127
7.1.Comparaison des paramètres biochimiques entre les deux espèces lichéniques : <i>R. farinacea</i> et <i>X. parietina</i>	127
7.1.1.Proline.....	127
7.1.2.Proteines totales.....	129
7.1.3.Sucres totaux.....	131
7.1.4.Taux MF/MS.....	133
7.1.5. Taux de GSH.....	135
7.1.6.Activité GST.....	137
7.1.7. Les chlorophylles (<i>a,b</i> et <i>a+b</i>).....	139
7.1.7.1.Comparaison des teneurs en chlorophylles (<i>a,b</i> et <i>a+b</i>) chez les deux espèces : <i>R. farinacea</i> et <i>X. parietiena</i> (Année 2008).....	139
7.1.7.2.Comparaison des teneurs en chlorophylles (<i>a,b</i> et <i>a+b</i>) chez les deux espèces : <i>R. farinacea</i> et <i>X parietiena</i> (Année 2009).....	141
7.2.Comparaison de l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des deux espèces lichéniques : <i>R. farinacea</i> et <i>X. parietina</i>	143
7.3. Comparaison de l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des deux espèces lichéniques : <i>R. farinacea</i> et <i>X. parietina</i>	147

8.Discussion.....	151
Conclusion générale.....	162
Perspectives.....	164
References bibliographiques.....	165
Bblionet.....	186
Annexe.....	187
Publications	

Le rejet de substances d'origine naturelle ou artificielle constitue l'un des plus importants facteurs de dégradation de la biosphère par l'homme. Les premières actions néfastes de celui-ci sur son environnement ont commencé à apparaître lorsque ses activités d'agriculteur et/ou d'éleveur ont modifié les écosystèmes naturels (**Lagadic et al., 1998**).

L'industrie produit une multitude de substances non biodégradables, sinon indestructibles, qui s'accumulent dans l'atmosphère, l'hydrosphère et les sols, perturbant le fonctionnement de la plupart des écosystèmes. Cette accumulation incessante de résidus des plus variés présente à long terme, de redoutables conséquences sur le plan écologique (**Ramade,1995**).

Aujourd'hui en Algérie, lorsqu'on s'intéresse à l'environnement, ce n'est que pour constater l'état de dégradation avancé dans lequel l'ont précipitées nos unités industrielles, implantées de manière anarchique, dans des zones agricoles ou à forte densité de population.

L'une des caractéristiques essentielles de la pollution d'origine humaine consiste en la dispersion, volontaire ou involontaire, de certaines substances (pesticides, engrais, hydrocarbures, etc..) ou éléments (métaux), susceptibles de contaminer divers compartiments de la biosphère (atmosphère, hydrosphère et lithosphère), y compris dans des endroits très éloignés de leur site initial d'émission (**Lagadic et al.,1998**).

Ainsi chaque jour des milliers de molécules sont rejetées dans l'atmosphère, dans la mer ou dans les rivières sans que leur biodégradabilité ne soient prises en compte. Ainsi, dans la région de Annaba, le complexe des engrais phosphato-azotés « **FERTIAL** » rejette plusieurs molécules , aussi bien dans l'atmosphère que dans la mer, comme c'est le cas des NO_x, qui en s'oxydant dans l'atmosphère aboutissent entre autres à la formation de nitrates (NO₃)(**Belegaud,1982**).

L'utilisation des engrais afin d'augmenter les rendements des cultures, a récemment été l'objet de préoccupations environnementales. En effet, l'apport d'engrais azotés d'origine industrielle est indispensable pour assurer une production agricole suffisante pour satisfaire l'humanité. Les légumineuses, qui seule sont capables de fixer l'azote moléculaire de l'air, la plupart des plantes d'intérêt agronomique absorbent et assimilent l'azote présent dans le sol ; mais un épandage excessif d'engrais azoté risque de provoquer de graves troubles au sein de l'environnement.

L'utilisation optimale des engrais azotés est une importante préoccupation pour assurer conjointement un rendement raisonnable du point de vue économique et une pollution minimale pour l'environnement.

Parmi les effets négatifs attribués aux engrais sur les écosystèmes, on peut citer :

- La pollution des sols par des métaux lourds toxiques.
- Le lessivage des sols par les eaux de pluies, qui conduit à la pollution des nappes phréatiques et des eaux souterraines, ce qui affecte la potabilité de l'eau et augmente les dangers sur la santé.
- La pollution des rivières et les eaux côtières, qui peut entraîner l'eutrophisation. Particulièrement avec les engrais entraînés par la pluie et qui se retrouvent emportés dans l'eau des rivières et des lacs où ils favorisent la croissance des algues, ainsi l'eau s'appauvrit en dioxygène dissous, entraînent la mort des poissons et de la vie aquatique. Ils occasionnent aussi le développement de marées vertes sur certaines portions littorales, entraînent des pertes économiques (**Cheverry,1992**).

Les sols sont également exposés au risque d'anoxie lorsque la quantité excessive de substances nutritives entraîne la raréfaction de l'oxygène dans le sol empêchant donc les micro-organismes naturels de fonctionner correctement, ce qui affecte alors la fertilité des sols. Les sols eutrophisés sont à l'origine d'émission de N_2O (**Cheverry,1992**).

- L'activité industrielle dégage de l'azote qui à certains endroits peut se combiner avec du soufre toxique qui menace la santé des arbres.

Les apports excessifs de composés azotés dans l'environnement sont à l'origine d'importantes atteintes environnementales. L'azote évolue dans l'environnement au sein d'un cycle parfois complexe ; la forme chimique de l'azote, en particulier, peut subir d'importantes modifications. Les nouveaux composés azotés ainsi formés, aboutissent dans les sols, les eaux souterraines et de surface et même dans l'air (Composés azotés sous forme gazeuse) (**Camargo et Alonso,2006**).

Face aux nombreuses substances qui se retrouvent quotidiennement dans l'environnement, la détection rapide d'une présence excessive de contaminants, la détermination de leur toxicité et une prévention des atteintes nuisibles sont nécessaires pour assurer la protection des écosystèmes (**Thurman et Gerba,1987 ; Vidal,2000**). Aussi s'est-on penché sur l'utilisation des méthodes biologiques notamment par l'utilisation d'espèces bioindicatrices tels que les mousses et les lichens.

L'utilisation de bioindicateurs végétaux dans le suivi de la pollution par les métaux lourds a déjà fait l'objet de plusieurs travaux (**Martinon,1991**) . Cependant, peu d'études traitent de l'impact d'autres types de pollution : engrais, pesticides.....etc. (**Bensoltane et al.,2005**).

Depuis la naissance de la terre, il y a environ 4.5 milliards d'années, les conditions auxquelles sont soumis les êtres vivants ont énormément évolué. Les plantes ont dû s'adapter à des contraintes de milieu très variées. Elles gardent en mémoire cette adaptation et leur apparition dans un lieu peut en révéler les modifications (**Ducerf et Thiry, 2003**).

La capacité de bioaccumulation des lichens nous est apparue une approche judicieuse pour évaluer l'impact d'un engrais sur l'environnement. D'autres végétaux inférieurs, tels que les bryophytes sont aussi capables d'accumuler des polluants grâce à leur capacité histologiques (**Markert,1993**). C'est le cas des mousses qui vivent à l'état naturel sur les troncs d'arbres et qui sont déjà connues comme bioaccumulateurs des métaux lourds lorsqu'elles sont transplantées en milieu atmosphérique (**Signal et al.,2008**). Ces végétaux (lichens et mousses) sont capables d'accumuler des polluants quelque que soit leur conditions d'émission, de diffusion et de dispersion .Ce sont des organismes très sensibles aux conditions du biotique et à leurs modifications (apports de polluants, mode de gestion ...). Parfois difficiles à trouver et difficiles à déterminer, ils sont souvent délaissés. Pourtant ils sont connus depuis de nombreuses années comme de bons bioindicateurs de pollution. En effet, les mousses et les lichens ont déjà été très souvent utilisés dans de nombreuses études de surveillance de la pollution atmosphérique (**Garrec et Van Haluwyn, 2002**).

Selon **Grégory et al.,(2004)**,une étude des lichens corticoles et des bryophytes a été entreprise dans quatre sites (zones humides) avec deux objectifs : le premier est d'évaluer la diversité floristique, le deuxième est de mettre en place un suivi de la pollution atmosphérique diffuse. Les résultats montrent un taux global de pollution faible dans ces sites.

Il s'est avéré très intéressant d'utiliser les bryophytes et les lichens, car ils apportent des compléments naturels aux plantes vasculaires. En outre, de par leurs propriétés physiologiques et leurs cycles biologiques courts, ils réagissent plus rapidement que la flore supérieure aux perturbations environnementales diverses (**Loppi et Bonini, 2000**).

L'utilisation de bioaccumulateurs, dans le cadre de travaux liés à la pollution atmosphérique, présente les avantages suivants :

- les concentrations sont habituellement plus importantes dans l'organisme accumulateur que celles mesurées dans l'air ou les précipitations, ce qui facilite l'analyse et diminue les problèmes de contamination des échantillons ;

- les procédures de collecte sont simplifiées et aucun équipement d'échantillonnage onéreux n'est nécessaire ;

- le bioaccumulateur fournit une mesure intégrée au laps de temps correspondant à son exposition aux polluants (**Guelorget et Perthuisot ,1984**).

Néanmoins, leur emploi est fonction de différents critères :

- il doit avoir une espérance de vie supérieure au temps d'exposition considéré ;
- il doit être relativement abondant dans l'aire d'étude ;
- les variations biologiques des espèces considérées doivent être minimales dans l'aire d'étude ;
- l'organisme doit être tolérant aux métaux en question et autres polluants présents ;
- l'échantillonnage doit être aisé ;
- les valeurs de concentration dans l'organisme doivent être accessibles par des techniques analytiques de routine sans requérir de pré concentration (**Steinnes, 1989 ; Beeby,2001; Wolterbeek, 2002**).

Aucun bioaccumulateur ne remplit l'ensemble des conditions listées précédemment, néanmoins, certains types d'organismes sont généralement plus appropriés que d'autres.

Les mousses et les lichens sont très sensibles aux polluants atmosphériques. Il semble que leur disparition presque complète de certaines grandes villes et autour de complexes industriels soit principalement due à la pollution de l'air. Une méthode pour représenter cartographiquement l'influence à long terme de la pollution de l'air sur les épiphytes corticoles est décrite par **Leblanc et De Sloover (1970)**. Un Indice de Pureté Atmosphérique « IAP » basé sur le nombre d'espèces d'épiphytes, leur couverture et fréquence et leur tolérance spécifique aux polluants est facile à exprimer quantitativement.

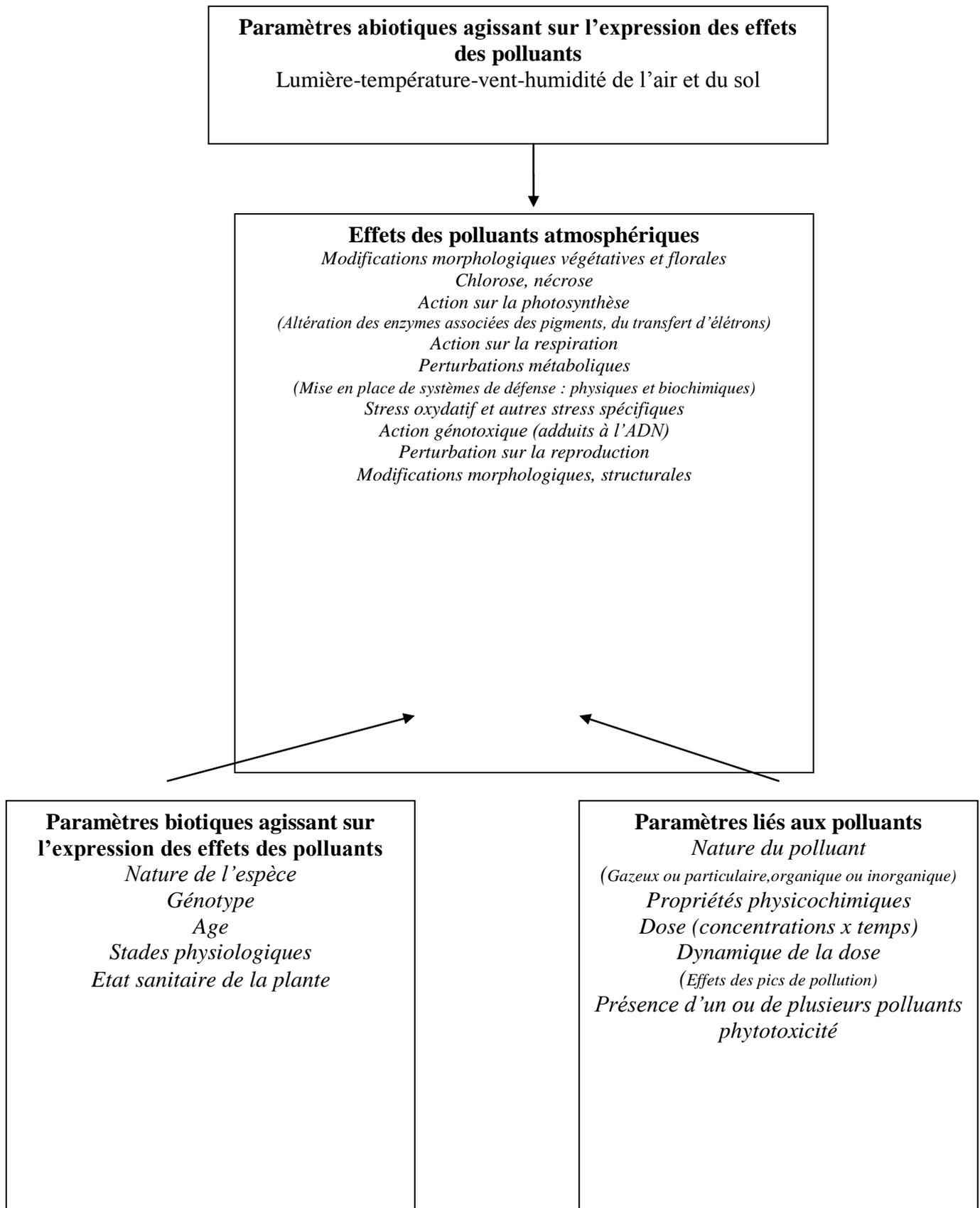


Figure 1. Principaux effets des polluants chez les végétaux-Interférence de divers paramètres (Yunus and Iqbal ,1996)

1. Généralités sur l'engrais NPK

1.1. Histoire et rôle

Pour accomplir le processus de leur vie végétative, les plantes ont besoin d'eau, de près de vingt éléments nutritifs qu'elles trouvent sous forme minérale dans le sol, de dioxyde de carbone (CO₂) apporté par l'air, et d'énergie solaire nécessaire à la synthèse chlorophyllienne.

Avec l'avènement de l'[industrie chimique](#), charbonnière et pétrolière au 19ème siècle, sont apparues des formes [chimiques](#) de plus en plus «pures» des éléments de base ([NPK](#)). Ces engrais chimiques, en dépit de leurs effets immédiats sur la croissance, n'ont pas toujours été facilement acceptés ([Nams et al.,1993](#)).

Les engrais doivent apporter, en justes proportions:

- des éléments de base, [azote](#) (N), [phosphore](#) (P), [potassium](#) (K); on parle des engrais de type NPK si les trois sont associés. Sinon, on parle également de N, NP, NK, PK;
- des éléments secondaires, [calcium](#) (Ca), [soufre](#) (S), [magnésium](#) (Mg),
- des [oligo-éléments](#), tels que le [fer](#) (Fe), le [manganèse](#) (Mn), le [molybdène](#) (Mo), le [cuivre](#) (Cu), le [bore](#) (B), le [zinc](#) (Zn), le [chlore](#) (Cl), le [sodium](#) (Na), le [cobalt](#) (Co), le [vanadium](#) (V) et le [silicium](#) (Si) ([Hecnar,1995](#)).

Ces éléments secondaires se trouvent habituellement en quantité suffisante dans le sol, et ne devraient être ajoutés qu'en cas de [carence](#), la plupart devenant toxiques, à faible dose, au-delà d'un seuil variant selon les éléments, certaines synergies entre éléments, et selon le pH du sol ([Hecnar,1995](#)).

Les plantes ont besoin de quantités relativement importantes des éléments de base, les [macro-éléments](#). L'azote, le phosphore et le potassium sont donc les éléments qu'il faut ajouter le plus souvent aux sols pauvres ou épuisés par des récoltes intensives, et se succédant sans [jachère](#)([Chambers et al.,2001](#)).

- l'azote contribue au développement végétatif de toutes les parties aériennes de la plante. Il est profitable à la plantation, au printemps, lors de la pousse de la végétation, et aux légumes feuillus, mais il convient de le distribuer sans excès car cela se ferait au détriment du développement des [fleurs](#), des [fruits](#) ou des [bulbes](#). On trouve de l'azote dans le sang séché, dans les tontes de gazon ou dans le purin d'orties. Sous forme chimique (ion NO₃⁻ dit

« *nitrate* »), il est particulièrement soluble dans l'eau, et peut alors être à l'origine de pollution azotée (**Chambers et al.,2001**).

- le phosphore renforce la résistance des plantes et contribue au développement des racines. Le phosphore se retrouve dans la poudre d'os ou dans les fientes. En excès, il devient un facteur d'[eutrophisation](#) de l'eau. Les engrais phosphorés chimiques peuvent contenir des radio-nucléides et du [cadmium](#) résiduel (**Chambers et al.,2001**).
- le potassium contribue à favoriser la floraison et le développement des fruits. Le potassium se trouve dans la cendre de bois, qui peut par ailleurs contenir des métaux lourds, ou des radionucléides dans certaines régions (**Chambers et al.,2001**).

L'engrais ternaire «*NPK*» constitue la base de la plupart des engrais vendus de nos jours. L'azote est le plus important d'entre eux, et le plus controversé à cause du phénomène de lessivage, lié la forte solubilité des nitrates dans l'eau (**Kennett et al.,2005**).

1.2. Applications

Généralement, les engrais sont incorporés au [sol](#), mais ils peuvent aussi être apportés par l'eau d'[irrigation](#). Cette dernière technique est employée aussi bien pour les cultures en sol, traditionnelles, que hors sol, sur un substrat plus ou moins inerte.

Dans certains cas, une partie de la fertilisation peut être réalisée par voie foliaire, par pulvérisation. En effet, les feuilles sont capables d'absorber des engrais, s'ils sont solubles, et si la surface de la feuille reste humide assez longtemps. Cette absorption reste toutefois limitée en quantité. Ce sont donc plutôt les [oligo-éléments](#) qui peuvent être ainsi apportés, compte tenu des faibles quantités nécessaires aux plantes (**Jensen,2005**).

Les engrais doivent être utilisés avec précaution. Il est généralement suggéré

- d'éviter les excès, car au-delà de certains seuils les apports supplémentaires, non seulement n'ont plus aucun intérêt économique, mais de plus, risquent d'être toxiques pour les plantes, particulièrement en oligo-éléments, et de nuire à l'environnement;
- de maîtriser leurs effets sur l'acidité du sol;
- de tenir compte des interactions possibles entre les éléments chimiques;
- de tenir compte des limites imposées par les autres facteurs de production (**Jensen,2005**).

2. Les espèces bio-indicatrices

Actuellement, nous avons besoin d'outils capables d'aborder de manière aussi globale et intégrée que possible, les phénomènes de la pollution, dans le souci d'améliorer nos connaissances et contrôler les phénomènes mis en cause (**Blandin ,1986**).

L'analyse directe des polluants, bien qu'indispensable en fournissant des données physico-chimiques quantifiées, elle ne permet pas de connaître l'impact sur le milieu vivant. Si connaître c'est mesurer, connaître la pollution, c'est effectivement mesurer les concentrations des polluants présents mais aussi en mesurer les effets (**Blandin ,1986**).

La recherche de moyens de bio-surveillance des effets des polluants émis par les décharges dans l'eau, le sol, l'atmosphère et les écosystèmes environnants. Le recours aux organismes vivants présente l'intérêt d'observer la vie sous différentes formes et permet de servir, dans les conditions de perturbation, de signal d'alarme (**Blandin ,1986**).

L'utilisation d'organismes vivants comme **bioindicateurs** s'avère incontournable afin de faciliter les tests écotoxicologiques par les laboratoires, mais aussi leur utilisation par les gestionnaires de l'environnement, concerné par l'écotoxicologie.

Le terme de **bioindicateur** a été défini par **Guelorget et Perthuisot (1984)**, qui considèrent que les bioindicateurs sont « des espèces ou groupes d'espèces qui, par leur présence et /ou abondance, sont significatifs d'une ou plusieurs propriétés de l'écosystème dont ils forment partie ».

Garrec et Van Haluwyn (2002), donnent un sens plus restrictif au terme de bioindicateur dans la mesure où ils le considèrent comme « un simple relais ne faisant référence qu'à des effets observables au niveau de l'individu se traduisant par des altérations morphologiques, tissulaires ou physiologiques (croissance et reproduction).

A l'heure actuelle, deux approches complémentaires, basés sur l'étude des organismes vivants, sont employées :

- La recherche de certaines espèces ou certains groupes d'espèces qui renseignent, par leur présence(ou leur absence) et/ou leur abondance, sur la qualité du milieu ; ces méthodes sont parfois associées à l'emploi de descripteurs mathématiques de la structure des communautés auxquelles appartiennent ces « **bioindicateurs** ».

- La mesure, au sein d'individus provenant du milieu naturel, de paramètres moléculaires, biochimiques, cellulaires ou physiologiques, regroupés sous le terme de « **biomarqueurs** » qui représente un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (**Lagadic et al., 1997**).

Les espèces **bioaccumulatrices** présentent, par leur mode de vie et/ou leurs caractéristiques physiologiques et métaboliques, la capacité de bioaccumuler certains contaminants directement à partir du milieu ambiant ou par d'autres voies (nourriture par exemple) jusqu'à des niveaux nettement supérieurs au niveau de la contamination du milieu physique (eau, sédiment , atmosphère, etc..) (**Lagadic et al., 1997**).

Deux processus sont responsables de la bioaccumulation de xénobiotiques dans les organismes :

- D'une part, la bioconcentration qui est un transfert direct à partir du milieu environnant (eau, sédiments, particules en suspension, etc...).
- D'autres part, la bioamplification qui résulte du transfert de molécules chimiques par voie trophique.

L'accumulation de certains polluants par les espèces bioaccumulatrices facilite leur mise en évidence et leurs quantifications par des méthodes chimiques et/ou physiques en procédant à l'analyse d'échantillons de ces espèces (**Lagadic et al., 1997**).

Objectifs

L'Algérie, un pays en voie de développement connaît ces vingt dernières années un fort accroissement démographique, une industrialisation de plus en plus active, et une intensification de ses activités agricoles. La pollution de l'environnement par l'azote est devenue une préoccupation majeure en agriculture (**Bouwer,1990 ; Leviel,1998**) et en santé publique (**Ellen et al.,1982 ;Chrétien et al.,1974**) et c'est dans ce sens que nous nous sommes intéressés au **NPKs** (**NP₂O₅K₂O**) (engrais azoté largement utilisé en agriculture dans notre région –ANNABA (Nord est algérien)-et fabriqué localement par **FERTIAL** (Entreprise des fertilisants d'Algérie).

FERTIAL, premier pôle industriel polluant au niveau de la zone du Grand Annaba, rejette 5 160 t/an de poussière d'engrais et 1 281 t/an de poussière de nitrate d'ammonium. Ajouté à cela, **ARCELOR MEETAL** qui est la seconde entreprise polluante avec 3 000 t/ans d'ammoniac.

But de travail

Cette partie de recherche a pour objectif l'étude du devenir des fertilisants azotés sur des organismes vivants (végétaux inférieurs) qui ont été sélectionnés comme modèles biologiques et la capacité de ces modèles choisis à s'adapter à la présence de concentrations croissantes de xénobiotique.

Dans le cadre de ce travail, nous tenterons d'apporter notre contribution sur l'utilisation des végétaux inférieurs comme bio-indicateurs de la pollution et par-là même leur comportement vis-à-vis des molécules vraisemblablement inoffensives mais en même temps controversées comme le **NPKs**.

Dans cette première partie de ce mémoire, nous nous sommes fixés trois objectifs principaux :

- L'application des tests de toxicité sur ces végétaux, par le biais du suivi de paramètres biochimiques de base et physiologiques (**teneurs de chlorophylles *a*, *b* et (*a+b*), taux de proline, teneurs en sucres solubles, teneurs en protéines totales**) chez des espèces végétales connues comme étant des bio-indicateurs : les mousses et les lichens.
- L'étude du pouvoir anti-oxydant de ces végétaux à travers le suivi des bio-marqueurs enzymatiques, tels que : **GST, CAT, APx** et également : **GSH et MDA** sous un stress causé par cet engrais.
- L'utilisation d'une technique originale qui permet la mesure de la production ou de la consommation d'oxygène par ces végétaux en présence ou non de polluant (NPKs). L'appareil utilisé pour cette technique est une électrode à oxygène.

1. Matériel chimique

Notre matériel chimique est un engrais ternaire : azoté-phosphaté-potassique-sulfaté : **NPKs** ($\text{NP}_2\text{O}_5\text{K}_2\text{O}$) (15,15,15), de couleur grisâtre et de présentation granulé, soluble dans l'eau. Il provient de la société des fertilisants d'Algérie « **FERTIAL** », il est dissout dans de l'eau distillé à des concentrations de **10,20, 30, 40 et 50mM**.

2. Matériel biologique

2.1. Les mousses

Parmi les [plantes](#) actuelles, les bryophytes sont celles qui ont conservé le plus de caractères des premières plantes ayant colonisé la terre ferme (**Ozenda, 2000**).

En classification classique ou traditionnelle, le sous-règne des [Bryophytes](#) (*Bryophyta lato sensu*) comprend trois divisions (ou embranchements) ou de végétaux terrestres non vasculaires :

- La division des **Hépaticophytes** (*Hepaticophyta*) : 6 000 espèces de plantes [hépatiques](#) ;
- La division des **Anthocérotophytes** (*Anthocerotophyta*) : 100 espèces d'[anthocérotes](#) ;

La division des **Bryophytes** (*Bryophyta stricto sensu*) : 9 500 espèces de mousses (**Guignard et Dupont, 2004**).

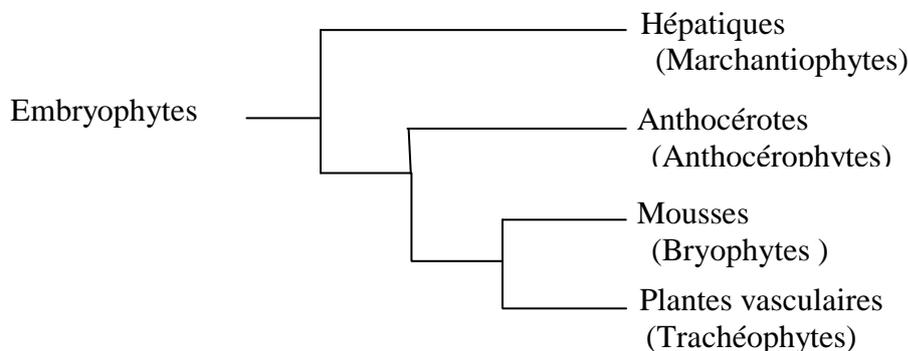


Figure 2. Cladogramme des Bryophytes (Guignard et Dupont, 2004)

L'importance écologique des Bryophytes a longtemps été sous-estimée. Présentes aussi bien dans les régions arctiques que dans les forêts tempérées et tropicales (riches en espèces épiphytes), elles y *stockent* l'eau par capillarité; en montagne elles interviennent dans la fonte des neiges. (**Guignard et Dupont, 2004**).

Les Bryophytes ont sans doute été, les premières plantes à passer de l'eau à la terre ferme; elles jouent encore ce rôle pionnier dans certaines conditions extrêmes, ombrage en sous-bois, substrats très pauvres et humides, rochers, écorces, souvent accompagnées de lichens avec lesquels elles initient la formation d'humus (**Guignard et Dupont, 2004**).

2.1.1. Caractères généraux des Bryophytes

L'embranchement des Bryophytes (du grec *bruos* : mousse et *phuton* : plante) regroupe environ 25 000 espèces, dont 1260 en France, réparties en trois classes : Hépatiques, Anthocérotes et Mousses (composées d'environ 15 000 espèces). Cette subdivision en 3 classes répond à des critères structuraux distincts du sporophyte et du gamétophyte.

Néanmoins, les caractères biologiques (morphologie, cycle de vie) et écologiques sont communs aux Bryophytes :

- ✓ Les bryophytes sont présentes dans toutes les régions du globe de l'équateur aux terrestres et aquatiques à l'exception du milieu marin. En raison de leur petite taille et de leur capacité à occuper et exploiter d'innombrables micro - stations, les aires de répartition des bryophytes sont beaucoup moins précises et pertinentes que celles des végétaux supérieurs (Cusset, 1997 ; Ah-Peng, 2003).

Ce sont des végétaux chlorophylliens de petite taille, inférieures à 70 cm, les plus grandes étant des Mousses aquatiques. Cette taille assez faible est due à l'absence de tissus de soutien lignifiés et de tissus conducteurs évolués.

Ils sont dépourvus de racines. L'alimentation en eau est réalisée à partir du sol par des rhizoïdes de taille millimétrique, qui ne peuvent exploiter que les horizons très superficiels, ou à partir de l'absorption des précipitations par tout le corps végétatif.

- ✓ Leur reproduction sexuée se fait selon un cycle digénétique (alternance entre deux générations).
- ✓ Les Bryophytes présentent une alternance régulière entre une génération haploïde (à n chromosomes), productrice de gamètes et appelée gamétophyte et une génération diploïde (à $2n$ chromosomes), productrice de spores et appelée sporophyte. (Bardat et Boudier, 2002).

2.1.2. Morphologie et physiologie

Il s'agit d'une classe de végétaux du phylum des Bryophytes, réunissant de petits végétaux herbacés, vivaces pour la plupart. Les mousses sont extrêmement petites pour la plupart, parfois même à peine visibles; aussi leur étude (autrefois appelée Muscologie, et aujourd'hui, plus correctement, Bryologie) offre-t-elle de grandes difficultés)(Lüttge et al., 1999).

La structure est simple, peu d'organes sont clairement différenciés, on parle d'une structure « thalloïde » ; les feuilles sont simples (une à trois couches de cellules) et avec des stomates, celles-ci disposées sur les tiges suivant une symétrie radiale, la tige ne possède pas de tissus conducteurs comparables à ceux des plantes à graines (Spermatophytes) ni même des fougères, et il n'y a pas de racines, simplement des rhizoïdes servant au support de la plante (ancrage plus important)(Lüttge et al., 1999).

2.1.3. Classification

On la divise en trois sous-classes :

- ❖ **Les Mousses proprement dites** : comprenant de nombreux ordres et familles, caractérisées en général par une symétrie radiale avec une "tige" portant des feuilles; de 10 000 à 13 500 espèces selon les estimations.
- ❖ **Les Sphaignes** : ne comprennent qu'un seul genre, *Sphagnum*, qui compte plus de 300 espèces, elles ne vivent que dans les eaux acides ou tout au plus neutres et chaque espèce ne se développe que entre deux limites de pH parfois très rapprochées (*espèces dites sténoionique*).
- ❖ **Les Andreaeales** : ce groupe ne comprend que les *Andreaea* et quelques petits genres (Ozenda, 2000).



Sphaignes



Andreaeales



Mousses proprement dites

Figure 3. Les différentes sous classes des Mousses (Bryopsidées)^{@1}.

2.1.4. Mousses, environnement et pollution

Les bryophytes, et les mousses en particulier tirent l'essentiel de leur nourriture de l'air et des nutriments apportés par la pluie ou les dépôts de particules. Ils jouent à ce titre un rôle important dans l'épuration de l'air, mais aussi en matière d'**accumulation** de certains polluants ([métaux lourds](#) et [radionucléides](#) notamment). Ce sont aussi des organismes pionniers important dans les processus de [résilience écologique](#) (Signal et al., 2008) .

De par leur résistance naturelle à de nombreux polluants , ils sont considérés comme [bioaccumulateurs](#), ils peuvent permettre de cartographier la pollution présente et d'un passé récent. On a les utilisé par exemple pour cartographier des pollutions par le [plomb](#) ou le [cadmium](#) (Ramade, 1995).

2.1.5. L'espèce de Mousse choisie



Position systématique

Règne : Plantae.

Division : Bryophyta.

Classe : Bryopsida.

Sous-classe : Bryidae.

Ordre : Neckerales.

Famille : Leucodontaceae.

Genre : Leucodon.

Espèce : *Leucodon sciuroides*.

Figure 4. *Leucodon sciuroides*

(A) : Vue rapprochée @²

(B) : Photo réelle de site d'échantillonnage.

2.2. Les lichens

2.2.1. Généralités

Le terme de « lichen » est d'origine grecque et se trouve pour la première fois dans les écrits de Théophraste (IV^e siècle avant notre ère) qui désignent des plantes croissant sur les troncs des arbres, auxquelles on attribuait à l'époque des vertus médicinales. Des Hépatiques étaient alors certainement confondus avec les lichens (**Ozenda et Clausade,1970**).

Ainsi appelle-t-on « Lichens », tous les végétaux présentent une individualité bien marquée qui résultent de la symbiose d'un Eumycète ou un chlorophyte (**Ozenda et Clausade,1970**).

2.2.2. Historique

Depuis déjà longtemps, les lichens sont utilisés comme bioindicateurs et biointégrateurs performants dans la détection de la pollution atmosphérique. C'est **Nylander** qui, le premier, constatant la disparition des lichens corticoles du jardin du Luxembourg entre 1866 et 1896, émit l'idée que les lichens pouvaient être des « Hygromètres » de la qualité de l'air.

En 1970, **Hawksworth et Rose** ont été établis une méthode d'estimation de la qualité de l'air pour la Grande-Bretagne et les Pays de Galles, à partir de l'observation des lichens. Ce fut la première méthode qualitative permettant une corrélation directe sur le terrain entre les espèces lichéniques corticoles et les teneurs moyennes hivernales de SO₂.

Durant la même période, une autre approche permettait la mise au point d'indices de biodiversité comme la méthode quantitative de **Leblanc et Sloover (1970)** dite méthode de l'indice de Pureté Atmosphérique (IAP). Cette méthode à la différence de la précédente, rend compte des modifications de la flore lichénique corticole en relation avec la qualité de l'air mais sans lien direct avec un polluant particulier. Depuis cette période, d'autres méthodes quantitatives ont vu le jour : celles des lichénologues suisses, des allemands et des italiens (**Nimis, 1991**).

L'un des problèmes majeurs de notre fin de siècle est la pollution atmosphérique. Il est possible d'évaluer la qualité de l'air à l'aide d'appareils de mesure, cependant leur coût élevé ne permettra jamais de couvrir l'ensemble du territoire. L'utilisation d'organismes vivants et en particulier pour l'évaluation de la qualité de l'air, la bioindication lichénique, doit être un outil à privilégier (**Ozenda, 1990 ; Duchatelet, 1994**).

Les lichens sont des organismes doubles qui résultent de l'union symbiotique d'un champignon avec une algue ou une cyanobactérie. Toutefois, leur nature double, longtemps ignorée, n'a été reconnue qu'à la suite des travaux de (**Diederich, 1990 ; Ozenda, 2000**).

Les lichens sont aujourd'hui utilisés comme indicateurs du niveau de pollution. Les polluants présents dans l'air (les hydrocarbures aromatiques polycycliques émis par les véhicules de transport, dioxines, rejets des usines d'incinération, polluants résilients et non biodégradables tels que les métaux lourds, plomb, chrome, cadmium). (**Ozenda et Clausade, 1970 ; Richardson, 1992**).

Les lichens sont très importants pour régénérer les sols, notamment après un incendie. Selon le niveau de pollution, certaines espèces de lichens meurent ou prolifèrent (**AFL, 1991 ; Dobson, 1992**).

2.2.3. Morphologie et physiologie

Sous l'aspect lichen, le thalle se présente sous forme d'écailles, de croûtes, de filaments, de lanières ou de lobes, aux allures de feuille. On distingue trois grands types de lichens:

- ❖ Les lichens fruticuleux au thalle en forme arbuste ou de tige plus ou moins ramifiée (ex: *Usnea* et *Ramalina*).
- ❖ Les lichens foliacés dont le thalle en forme de limbe foliaire, attaché au substrat par un seul point plus ou moins étendu (ex : *Parmelia*, *Xanthoria*).
- ❖ Les lichens encroûtant ou crustacés qui forment des croûtes minces ou épaisses fermement appliquées au substrat, tandis que le bord forme une limite imprécise.

Tableau 1 . Comparaison entre lichens et végétaux supérieurs.

(Schumacher et Hallet,1997)

Lichens	Végétaux supérieurs
- L'eau et les minéraux proviennent exclusivement de l'air et de l'eau de pluie.	- L'eau et les sels minéraux, sont puisés dans le sol.
- Absence de système de régulation des entrées et des sorties.	- Les feuilles sont recouvertes d'une cuticule protectrice et imperméable, les stomates sont capables de se fermer à certains polluants.
- Actif toute l'année après la pluie.	-Pas d'activité hivernal.
- Croissance lente.	- Croissance rapide.

2.2.4. Propriétés

Le grand nombre des lichens, leur extrême diversité structurale et les larges possibilités que leur offre la symbiose, entraînent une grande variété de leur écologie, dont seules les grandes lignes seront évoquées. Elles découlent directement des particularités anatomique et physiologique:

- ❖ La dépendance plus ou moins grande vis-à-vis du substrat, croissante des lichens fruticuleux aux foliacés et aux crustacés, maximale chez ceux dont le thalle est hypocortical ou endolithique et qui dépendent alors étroitement des caractères physiques (dureté, porosité) ou chimiques (pH, teneur en calcium) de ce substrat.

- ❖ L'exigence photophile, conséquence de la faible biomasse relative des cellules chlorophylliennes. (**Hawksworth et Hill, 1984 ; Ozenda, 2000**).
- ❖ La reviviscence, qui permet la colonisation de milieux à sécheresse temporaire, sans masquer pour autant la loi général, valable pour les lichens aussi, de la plus grande richesse des stations et des climats humides.
- ❖ La résistance aux basses températures, qui entraîne la richesse en lichens des montagnes et des régions nordiques.
- ❖ Les lichens sont dépourvus de système de contrôle des entrées et des sorties, ils n'ont pas de stomates pour contrôler les échanges avec l'atmosphère. (**Deruelle et Lallement, 1983**).

2.2.5. Utilisation des lichens comme bioindicateurs

Les lichens sont utilisés:

- ❖ Comme indicateurs de la chimie des sols.
- ❖ Pour l'évaluation de la hauteur moyenne d'enneigement.
- ❖ Pour la datation de l'âge des moraines, d'après le diamètre des plus grands lichens crustacés, de leurs blocs rocheux.

Mais leur principal intérêt dans ce domaine, est leur utilisation possible dans la localisation des pollutions atmosphériques .Il y a plus d'un siècle qu'on a noté que, très sensibles aux fumées et poussières, ils ont totalement disparu des grandes villes et des zones industrielles. Cette question a donné lieu depuis trente ans à un grand nombre de travaux dans tous les pays industrialisés. (**Van Haluwyn et Lerond , 1993 ; Ozenda , 2000**).

2.2.6. L'espèce de lichens choisie



Position systématique

Règne: Champignons

Division : Ascomycota

Classe: Lecanoromycetes

Sous-classe : Lecanoromycetidae

Ordre: Lecanorales

Famille: Ramalinaceae

Genre: *Ramalina*

Espèce : *Ramalina farinacea*

Figure 5. *Ramalina farinacea*

(A): Vue rapprochée @³

(B): Photo réelle de site d'échantillonnage.

3. Méthodes

3.1. Méthode de préparation du milieu de culture

Les solutions préparées avec les différentes concentrations de NPKs sont utilisées pour l'imbibition des échantillons des mousses et des lichens. Environ, 4g de thalle sont trempés dans 400ml de la solution préparée pendant deux périodes de traitement : 3 et 7 jours (**Bensoltane, 2005**).

3.2. Méthodes de dosage

3.2.1. Dosage de la chlorophylle

La méthode utilisée pour l'extraction de la chlorophylle est la méthode traditionnelle établie par **Holden, (1975)**, qui consiste en une macération du végétal dans l'acétone.

Le traitement des échantillons se fait comme suit :

- 1g du végétal (Mousses et lichens), coupé en petits morceaux et broyé dans un mortier avec 20 ml d'acétone à 80% et environ 100 mg de bicarbonate de calcium (CaCO_3).
- Après broyage total, la solution est ensuite filtrée et mise dans des boîtes noires, afin d'éviter l'oxydation de la chlorophylle par la lumière.
- La lecture se fait aux deux longueurs d'onde 645 et 663 nm, après étalonnage de l'appareil avec la solution témoin d'acétone à 80%.
- La formule relative au solvant d'acétone, nous permet de calculer les valeurs des chlorophylles (**Arnon, 1949**).

$$\begin{aligned} \text{Chl.a} &= 12,7 \text{ DO (663)} - 2,69 \text{ DO (645)}. \\ \text{Chl.b} &= 22,9 \text{ DO (645)} - 4,6 \text{ DO (663)}. \\ \text{Chl (a+b)} &= 8,02 \text{ DO (663)} + 20,20 \text{ DO (645)}. \end{aligned}$$

3.2.2. Dosage de la proline

La technique de dosage de la proline utilisée est celle de **Monneveux et Nemmar, (1986)**.

- 100 mg du végétal (mousses et lichens), coupé en petits morceaux et introduit dans un tube à essai, auquel on ajoute 2 ml de méthanol à 40%, l'ensemble est ensuite chauffé au bain-marie à 80°C pendant 60 min, les tubes sont recouverts de papier aluminium pour éviter la volatilisation de l'alcool.
- Après refroidissement, on prélève 1 ml de la solution, auquel on ajoute 1 ml d'acide acétique (CH_3COOH) et 1 ml de mélange modifié contenant : 120 ml d'eau distillée + 300 ml d'acide acétique + 80 ml d'acide orthophosphorique et 25 mg de ninhydrine.
- Les solutions sont portées à ébullition pendant 30 min, elles virent au rouge, après refroidissement, on ajoute 5 ml de toluène, après agitation deux phases se séparent :
 - 1- La phase inférieure sans proline.
 - 2- La phase supérieure qui contient la proline. Cette phase est ensuite récupérée et déshydratée par l'adjonction de Na_2SO_4 .
- Enfin, on procède à la détermination des densités optiques des échantillons à la longueur d'onde 528 nm, après étalonnage de l'appareil par le mélange (acide acétique + eau distillée + acide orthophosphorique + ninhydrine).
- Les valeurs obtenues sont reportées sur la courbe d'étalonnage :

$$Y = 0.00681 X + 0.00105 \quad R^2 = 0.99$$

Y = Densité optique (DO).

X = Concentration en proline.

3.2.3. Dosage des protéines totales

Les protéines totales des mousses et des lichens ont été quantifiées selon la méthode de **Bradford (1976)**, en utilisant l'albumine du sérum de bœuf (BSA) comme standard (Merk). La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution mère de BSA (1 mg/ml). Le dosage des protéines est effectué avec une fraction aliquote de 100µl.

- Les densités optiques sont mesurées grâce à un spectrophotomètre (JENWAY 63000), la mesure est réalisée à une longueur d'onde de 595nm.
- Les protéines totales sont déterminées à partir de la courbe de référence.

$$Y = 0.0444 X \quad R^2 = 0,99$$

Y = Densité optique (DO).

X = Concentration des protéines totales.

3.2.4. Dosage des sucres totaux

Les sucres solubles sont dosés selon la méthode de **Schiels et Burnett (1960)**, basée sur l'utilisation de l'anthrone en milieu sulfurique comme réactif (150 mg anthrone, 75 ml acide sulfurique 96 %, 25 ml eau distillée) et une solution mère de glucose à 50µg/ml.

Nous prélevons 100mg de matière végétale fraîche (mousses et lichens). On ajoute ensuite 3ml d'éthanol à 80%, on laisse le tout à une température ambiante pendant 48h environ. On chauffe au bain marie à 70°C pendant 30min et on prélève 2ml d'extrait pour le dosage.

Le dosage des sucres totaux est effectué dans une fraction aliquote de 100µl à laquelle on ajoute 4 ml du réactif à l'anthrone. Les tubes sont maintenus dans un bac de glace pendant la manipulation pour éviter l'éclatement car la réaction est exothermique.

- Après agitation, les tubes remis dans un bain-marie préalablement porté à une température de 92°C pendant 8 minutes. Ils sont ensuite refroidis dans un bac à glace à l'obscurité pendant 30 minutes pour éviter l'oxydation des sucres.
- Les absorbances sont mesurées grâce à un spectrophotomètre (JENWAY 63000) et la lecture est réalisée à une longueur d'onde de 585 nm.
- Les teneurs en sucres totaux sont déterminées à partir de la courbe de référence.

$$Y = 0.009 X + 0.04 \quad R^2 = 0.99$$

Y = Densité optique (DO).

X = Concentration des sucres totaux.

3.2.5. Dosages Enzymatiques

3.2.5.1. Préparation de l'extrait enzymatique

La méthode adaptée afin d'obtenir l'extrait enzymatique du végétal est celle de **Loggini et al.,(1999)**.

Après 3 et 7 jours de traitement, 500mg du végétal (mousses et lichens) est broyé à froid à l'aide d'un mortier dans un tampon phosphate (50ml NaK ,pH=7,2) à raison de 1ml du tampon pour 1 g de MF. L'homogénat est ensuite filtré à l'aide d'une toile adéquate avant de procéder à une

centrifugation à froid à 12000g pendant 20mn(centrifugeuse sigma 3-16K).Le surnageant obtenu sera utilisé comme extrait pour la détermination des différents extraits enzymatiques.

3.2.5.2. Dosage de l'activité Ascorbate-peroxydases (APX)

L'activité ascorbate-peroxydase est réalisée suivant le protocole adopté par **Nakano et Azada (1987)**. Le volume réactionnel final de 3ml contient : 100µl d'extrait enzymatique, 50µl d'H₂O₂ à 0,3% et 2850µl de tampon phosphate NaK-Ascorbate (50mM NaK, 0,5mM ascorbate, pH= 7,2). L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique. La lecture est effectuée à 290 nm (Spectrophotomètre JENWAY 63000) pendant 1min et ce pour un coefficient d'extinction molaire $\epsilon = 2800M^{-1}.cm^{-1}$, l'activité APX est exprimée en nmol/min/mg de protéines.

3.2.5.3. Dosage de l'activité Catalase (CAT)

L'activité catalase (CAT) est réalisée suivant la méthode de **Cakmak et Horst, (1991)**. La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant trois minutes par un spectrophotomètre (JENWAY 6300) pour une longueur d'onde de 240nm et un coefficient d'extinction molaire $\epsilon = 39400 M^{-1}.cm^{-1}$. Pour un volume final de 3ml, le mélange réactionnel contient : 100µl de l'extrait enzymatique brut, 50µl de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ à 0,3% et 2850µl de tampon phosphate (50mM, pH= 7,2). L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique. La réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée. L'activité catalase est exprimée en nmol/min/mg de protéines.

Les résultats sont exprimés en µmoles de H₂O₂ consommées par minute, ce qui correspond à 1 U de catalase et l'ascorbate peroxydase selon la formule suivante :

$$X = \frac{(\Delta DO \times 10)}{\epsilon \times L \times 0,05 \times \text{mg de protéine}}$$

X : µmoles de H₂O₂ consommées par minute et par mg de protéines

Δ Do : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

ε : coefficient d'extinction molaire (m M⁻¹. Cm⁻¹)

L : Longueur de la cuve utilisée (1cm).

0,05: Le volume du surnageant utilisé en ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

3.2.5.4. Dosage de l'activité Glutathion S-Transférane (GST)

L'activité glutathion S-transférane est réalisée par la méthode de **Habig et al.,(1974)** . Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4

dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur :le glutathion (GSH). Cette activité est mesurée à une longueur d'onde de 340nm par un spectrophotomètre visible/UV (JENWAY 63000).

Les échantillons sont homogénéisés dans un tampon phosphate à pH 6,5 et à 100mM et centrifugés à 9000g pendant 30 min , le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes.

Les concentrations de la GST sont exprimées en $\mu\text{mole /min/ mg}$ de protéines et l'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta D_0}{9,6} \times \frac{V_t}{V_s} \quad \text{mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines ($\mu\text{M/min/mg}$ de protéines).

ΔD_0 : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps. .

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Vt : volume total dans la cuve : 1,4 ml (0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH). .

Vs : volume du surnageant utilisé dans le dosage : 0.2 ml.

mg de protéine : quantité de protéines exprimée en mg.

3.2.5.5. Dosage de Glutathion (GSH)

Le taux de glutathion a été dosé selon la méthode de **Weckberker et Cory (1988)**, qui repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5 mércapturique, résultant de la réduction de l'acide 5-5' thiol-bis-2-nitrobènzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion.

Le protocole consiste à :

- Broyer **500 mg** du végétal dans **4 ml** tampon phosphate (**0.1 M, pH=6.5**).
- Centrifuger ce mélange à **5000 tours/min pendant 15 min**.
- Prélever **0.8 ml** (800 μl) de l'homogénat.
- Ajouter **0.2 ml** (200 μl) de **ASS 0.25%**.
- Agiter et laisser **15 min** dans un bain de glace.
- Centrifuger à **1000 tours/min** pendant **5 min**.
- Prélever **0.5 ml** (500 μl) du surnageant.
- Ajouter **1 ml** de tampon **Tris-EDTA**.
- Mélanger et ajouter **0.025 ml** (25 μl) de DTNB.
- Laisser pendant **5 min** à la température ambiante.
- Lecture à **412 nm** grâce à un spectrophotomètre de type (JENWAY 6705).

Le taux du Glutathion est estimé selon la formule suivante:

$$X = \frac{\Delta D_0}{13.1} \times \frac{V_d}{V_h} \times \frac{V_t}{V_s} \quad \text{mg de protéines.}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines ($\mu\text{M/mg}$ de protéines).

ΔD_0 : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

13.1 : coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH) à 412 nm.

Vd : volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation : 1 ml (0.2 ml ASS + 0.8 ml homogénat).

Vh : volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0.8 ml.

V_t : volume total dans la cuve : 1.525 ml (0.5 ml surnageant + 1 ml tris/EDTA + 0.025 ml DTNB).
V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0.5 ml.
mg de protéine : quantité de protéines exprimée en mg.

3.2.5.6. Dosage de malondialdehyde (MDA)

La peroxydation des lipides est estimée par l'évolution de la teneur en malondialdehyde (**MDA**) déterminée selon la méthode décrite par **Alia et al.,(1995)**. L'homogénéisation du tissu végétal dans l'acide trichloroacétique (**TCA**) **5 %** à raison de 10 ml pour 1g de tissu végétal est suivie d'une centrifugation pendant 15 mn à 12 000 g. Au surnageant est ajouté un volume égal d'acide thiobarbiturique (**TBA**) **0,5%** dans le (**TCA**) **20%**. Le mélange est incubé à 100°C pendant 25 mn. L'absorbance du surnageant, obtenu après centrifugation à 10 000g pendant 5 mn, est lue à 532 nm. La densité optique est ensuite corrigée par la soustraction de l'absorbance non spécifique à 600 nm. La concentration de MDA est calculée en utilisant son coefficient d'extinction **155 mM⁻¹cm⁻¹**.

$$X = \frac{\Delta D_0}{155} \times \frac{V_t}{V_s} \quad \text{mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (µM/mg de protéines).
ΔD₀ : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.
155 : coefficient d'extinction molaire du TBA (mM⁻¹cm⁻¹).
V_t : volume total dans la cuve : 1 ml .
V_s : volume du surnageant utilisé dans le dosage : 0.5 ml.
mg de protéine : quantité de protéines exprimée en mg.

4. Etude du métabolisme respiratoire

L'appareil utilisé est une électrode à oxygène, de type HANSATECH, qui permet la mesure de la production ou de la consommation d'oxygène. L'appareil comprend une cathode polarisée (-) en platine et une anode polarisée (+) circulaire en argent. Le contact entre les deux électrodes est établi par un pont de solution saturée de KCl, la suspension cellulaire est constamment remuée par un agitateur magnétique. L'application d'une faible tension électrique va provoquer la réduction électrolytique de l'oxygène présent dans la solution. Le courant qui traverse le circuit des deux électrodes quand la tension appliquée est en moyenne de 0,7mV, varie linéairement en fonction de la concentration en oxygène dissout dans la suspension cellulaire selon la réaction :



La jaquette est maintenue à une température constante de 25°C. Cet appareil est relié à un ordinateur sur lequel les spectres apparaissent et sont ensuite enregistrés sur une imprimante de type (Epson-LQ 1027) (**Djebar et Djebar, 2000**).



Figure 6. *L'électrode à oxygène (Djebar et Djebar, 2000).*

5 .Etude du métabolisme photosynthétique

L'intensité photosynthétique des échantillons (Mousses et Lichens) isolées est mesurée par l'électrode à oxygène comme pour l'intensité respiratoire. L'échantillon est séparé de toute source lumineuse par un épais filtré noir (carton) et caché par une boîte noire afin d'accélérer le processus métabolique et permettre aussi l'activité photosynthétique.

6.Etude statistique

L'analyse statistique des données est effectuée par le test T de Student qui consiste à comparer les moyennes de 2 populations à l'aide des données de deux échantillons indépendants , réalisé à l'aide d'un logiciel d'analyse des données: Minitab (Version 16.0) (**Dagnelie, 1999**).

1. Traitement 3 jour

1.1. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux de proline

Les effets du NPKs sur les variations du taux de proline chez les mousses sont regroupés dans la figure (7) .

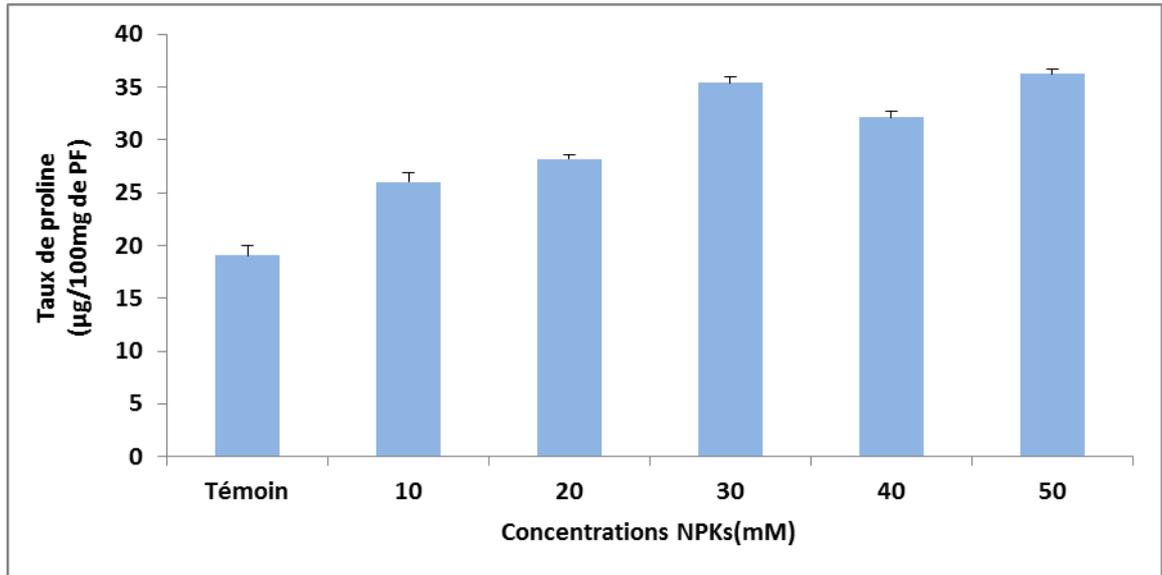


Figure 7. Effets de NPKs sur les variations du taux de proline chez *Leucodon sciuroides*

On constate que chez le témoin, le taux en proline est inférieur par rapport à ce des traités (19,07 µg /100 mg de PF(±0,96), alors que chez les échantillons traités ,le taux de proline est dose dépendant .Avec la plus forte concentration de NPKs (50mM), le taux de proline augmente jusqu'à 36,25 µg /100 mg de PF (±0,38), alors que celui observé avec la plus faible concentration (10mM) est réduit à environ 72% (25,98 µg /100 mg de PF (±0,89).

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les témoins et les traités à différentes concentrations (10,20,30,40 et 50mM) après 3 jours de traitement, (P≤0,001).

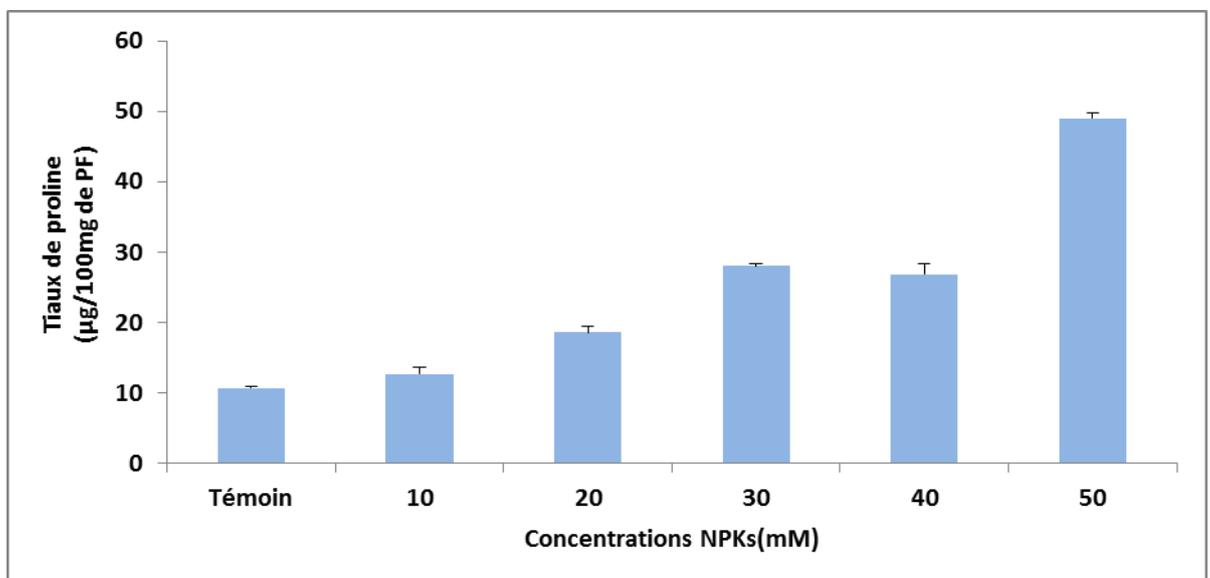


Figure 8. Effets de NPKs sur les variations du taux de proline chez *Ramalina farinacea*

La figure (8), illustre l'effet des différentes concentrations en NPKs sur les teneurs moyennes en proline chez les lichens. Nous constatons que chez les échantillons traités, le taux de proline tend à augmenter d'une manière dose-dépendante par rapport aux échantillons témoins. Cette augmentation est significative à la plus forte concentration où le taux de proline atteint **49,03 $\mu\text{g}/100\text{ mg de PF}$ ($\pm 0,81$)**, alors que chez les témoins, ce taux ne dépasse pas **10,7 $\mu\text{g}/100\text{ mg de PF}$ ($\pm 0,14$)**.

L'analyse statistique révèle une différence significative ($P < 0,05$) des traités par la concentration (10mM) après un traitement de 3 jours, comparativement aux témoins. Cependant, des différences très hautement significatives ($P < 0,001$) ont été révélées pour les autres concentrations (20,30, 40 et 50mM).

1.2. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les teneurs des sucres totaux :

Les figures (9 et 10) mettent en évidence l'effet de NPKs sur les teneurs moyennes des sucres totaux respectivement chez les mousses et les lichens.

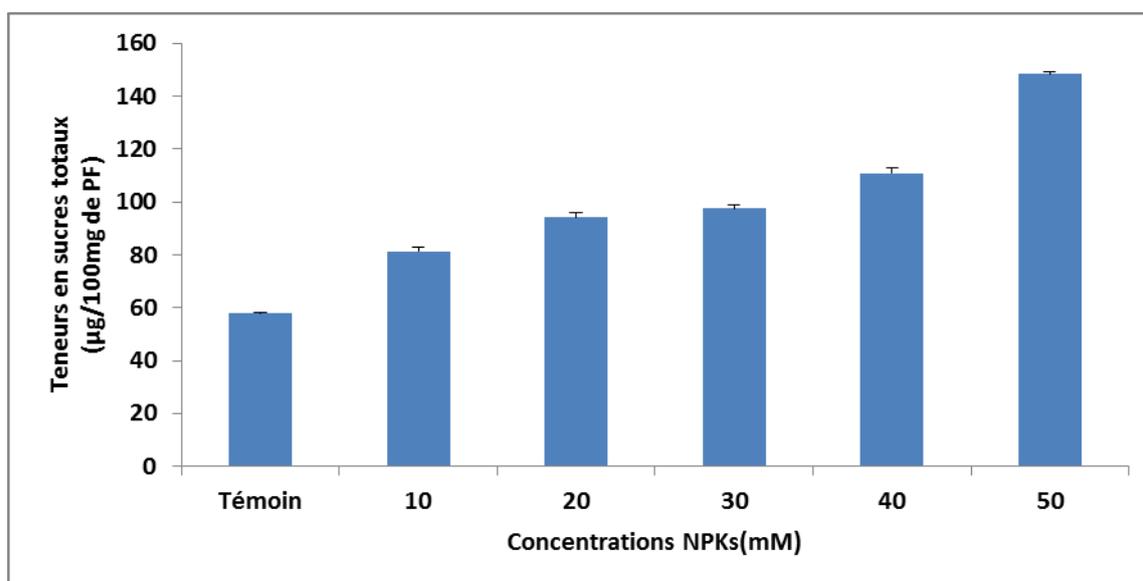


Figure 9. Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes des sucres totaux chez *Leucodon sciuroides*

La figure (9), met en évidence les variations du taux de sucres totaux chez *L.sciuroides*. Nous constatons une augmentation dose-dépendante. Chez les échantillons témoins, ces teneurs sont réduites par rapport à ceux des traités : environ **57,77 ($\pm 0,22$) $\mu\text{g}/100\text{mg de PF}$** . Alors que celle observée avec la concentration **50mM**, est de l'ordre de **148,43 ($\pm 0,67$) $\mu\text{g}/100\text{mg de PF}$** .

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives chez les traités avec les différentes concentrations (10,20,30, 40 et 50mM) par rapport au témoin ($P \leq 0,001$)

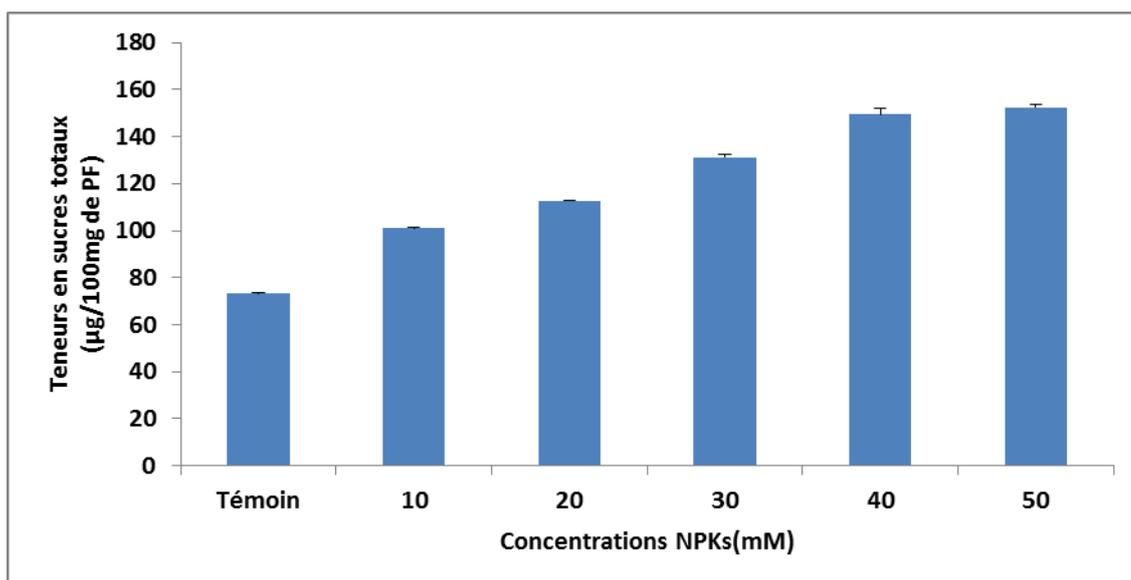


Figure 10. Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes des sucres totaux chez *Ramalina farinacea*.

Nous constatons que chez les lichens, les teneurs en sucres totaux tendent à augmenter avec les concentrations de NPKs par rapport au témoin dont la valeur est de l'ordre de **73,32(±0,38)µg/100mg de PF** . Par conséquent, cette augmentation est significative avec les deux plus fortes concentrations (**40 et 50mM**) qui sont respectivement [**149,55(±2,33)µg/100mg de PF** et **152,55(±0,91)µg/100mg de PF**].

Après 3jours de traitement, l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives ($P \leq 0,001$) par toutes les concentrations (10, 20,30, 40 et 50mM) par rapport au témoin.

1.3. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les teneurs moyennes de protéines totales :

Les tableaux (2 et 3) représentent respectivement l'effet du traitement par le NPKs sur les teneurs en protéines totales chez les mousses et les lichens.

Tableau 2. Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes de protéines totales chez *Leucodon sciuroides*.

Traitement NPKs : (g/l) (mM)	0	2,48	4,96	7,44	9,92	12,4
	0	10	20	30	40	50
Teneurs en Protéines (µg/100mg de MS)	10,53±0,133	11,05±0,17 *	11,37±0,096 ***	16,79±0,13 ***	22,6±0,16 ***	24,88±0,16 ***

Le tableau (2), illustre les variations des taux des protéines totales chez *L.sciuroides*. Nous constatons que le traitement par le NPKs provoque une augmentation significative des taux des protéines totales chez les mousses traitées avec un taux d'environ : **24,88 (±0,16)µg/100mg de MS** à la plus forte concentration (**50mM**). Comparés aux taux observés chez les mousses témoins qui est de l'ordre de **10,53 µg/100mg (±0,133)**de MS.

L'analyse statistique révèle une différence significative entre le taux des protéines chez les témoins et traités par la concentration (10mM) ($p \leq 0,05$) et des différences très hautement significatives pour les traités par les concentrations (20,30,40 et 50mM) par rapport au témoin ($P \leq 0,001$).

Tableau 3. Effets du NPKs sur les variations des teneurs moyennes de protéines totales chez *Ramalina farinacea*.

Traitement NPKs : (g/l) (mM)	0	2,48	4,96	7,44	9,92	12,4
	0	10	20	30	40	50
Teneurs en Protéines ($\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MS)	27,35 \pm 0,098	33,82 \pm 0,23 ***	37,38 \pm 0,19 ***	40,02 \pm 0,33 ***	42,42 \pm 0,117 ***	43,08 \pm 0,035 ***

Le tableau (3) met en évidence les variations des taux de protéines totales en présence de différentes concentrations de NPKs chez *R.farinacea*. Nous constatons une nette augmentation des teneurs en protéines totales dose-dépendante. Cette augmentation atteint un taux de **43,08 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MS ($\pm 0,03$)** avec la plus forte concentration (**50mM**).

Après un traitement de 3 jours, l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les témoins et les traités par toutes les concentrations (10,20,30,40 et 50mM) ($P \leq 0,001$).

1.4. Effets de NPKs sur les variations des teneurs des chlorophylles (*a*, *b* et *a+b*)

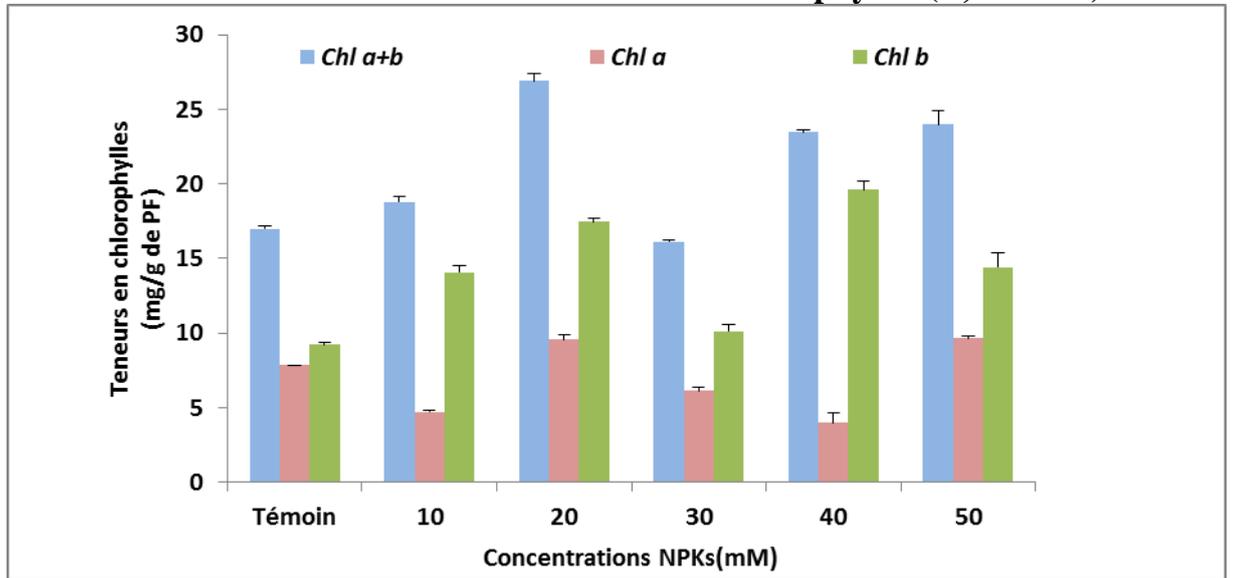


Figure 11. Variations des teneurs des chlorophylles (*a*, *b* et *a+b*) chez *Leucodon sciuroides* en fonction des concentrations croissantes de NPKs

La figure (11), met en évidence l'évolution des taux de chlorophylles *a*, *b* et (*a+b*) en fonction des concentrations croissantes de NPKs chez les mousses.

Nous constatons que ces teneurs augmentent d'une manière dose-dépendante jusqu'à (**26,92µg/g de PF(±0,47)**) pour la chlorophylle (*a+b*) et ce à la concentration **20mM**. Après une réduction des teneurs en chlorophylles (*a+b*) chez les traités avec **30mM** (**16,12µg/g de PF(±0,12)**), on observe une nouvelle augmentation avec les deux fortes concentrations (**40 et 50mM**) qui sont respectivement [**23,45µg/g de PF(±0,21)**] et [**23,98 µg/g de PF(±0,91)**].

L'analyse statistique révèle une différence significative entre les témoins et les traités avec la concentration (30mM) pour la (*Chl b*) ($P \leq 0,05$), tandis que des différences très hautement significatives pour l'ensemble des traités et avec toutes les concentrations (10,20, 30,40 et 50) (Chlorophylle *a*, *b* et *a+b*) ($P \leq 0,001$) toujours par rapport aux témoins.

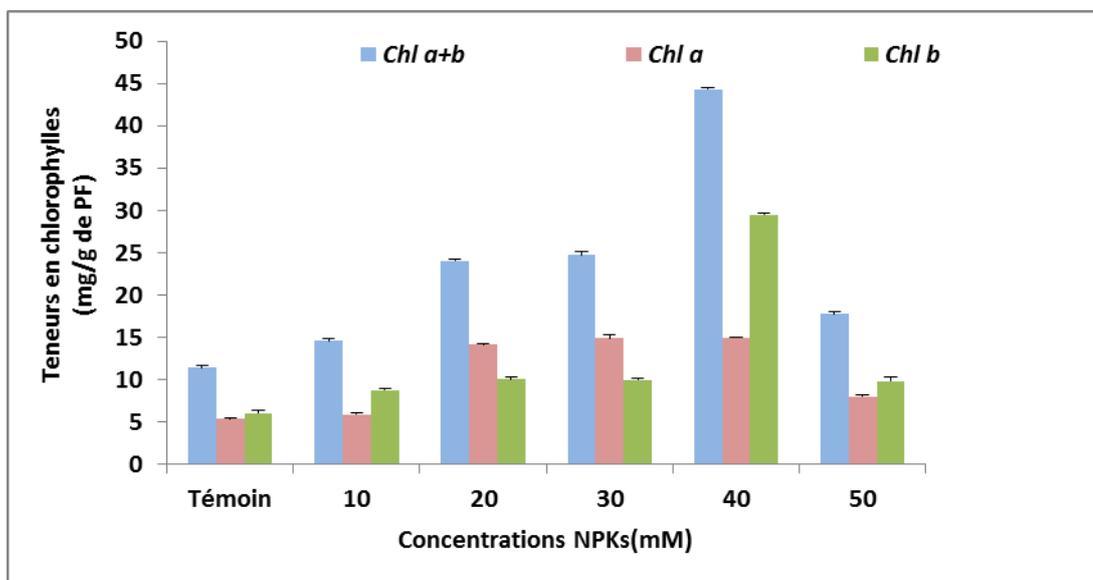


Figure 12. Variations des teneurs des chlorophylles (*a*, *b* et *a+b*) chez *Ramalina farinacea* en fonction des concentrations croissantes de NPKs

La figure (12), met en évidence l'effet des concentrations de NPKs sur les teneurs en chlorophylles *a*, *b* et (*a+b*) chez les lichens. Nous constatons que les teneurs en chlorophylle (*a+b*) augmentent de manière dose-dépendante jusqu'à la concentration (40mM), où nous constatons une diminution du taux de chlorophylle (*a+b*) avec **17,73µg/g de PF (±0,28)** .

D'autre part, l'analyse statistique révèle une différence significative chez les témoins et les traités avec la concentration (10mM) (**Chl a**) ($P \leq 0,05$), tandis que des différences très hautement significatives pour l'ensemble des traités et avec toutes les concentrations (10,20, 30,40 et 50) (**Chl a, b et a+b**) ($P \leq 0,001$).

1.5 .Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le taux de GSH

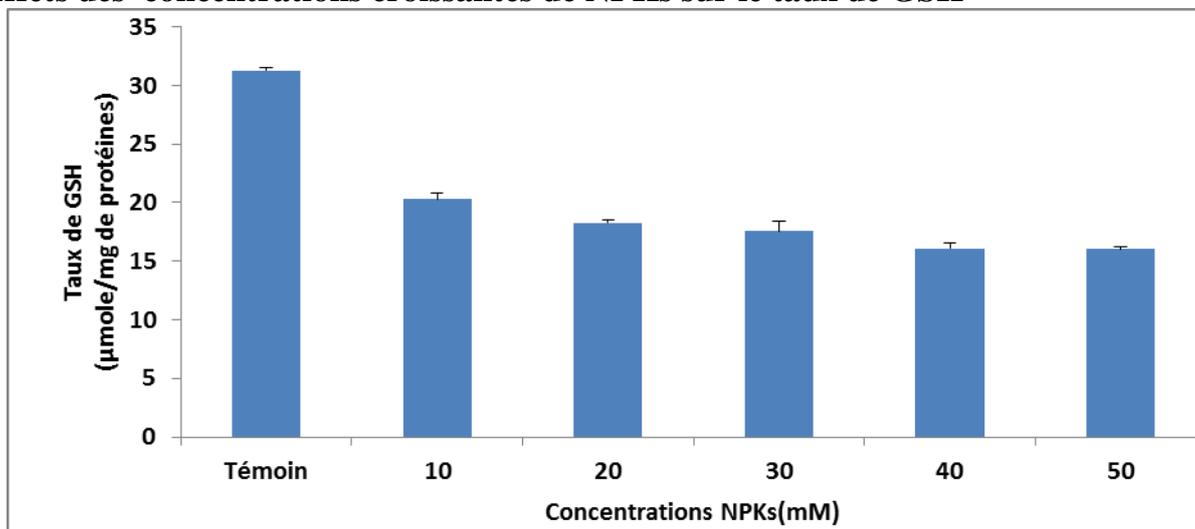


Figure 13 . Effets de NPKs sur le taux de glutathion chez *Leucodon sciuroides*

La figure (13), illustre les variations du taux de GSH chez *L.sciuroides* en présence de concentrations croissantes de NPKs.

Nous constatons que le taux de glutathion diminue de manière dose-dépendante. Ainsi à la concentration **50mM**, le taux de GSH est faible : **(16,06(±0,15) µmole/mg de protéines** par rapport au témoin qui est de : **(31,27(±0,21) µmole/mg de protéines**.

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les témoins et les traités par toutes les concentrations (10,20,30,40 et 50mM) ($P \leq 0,001$).

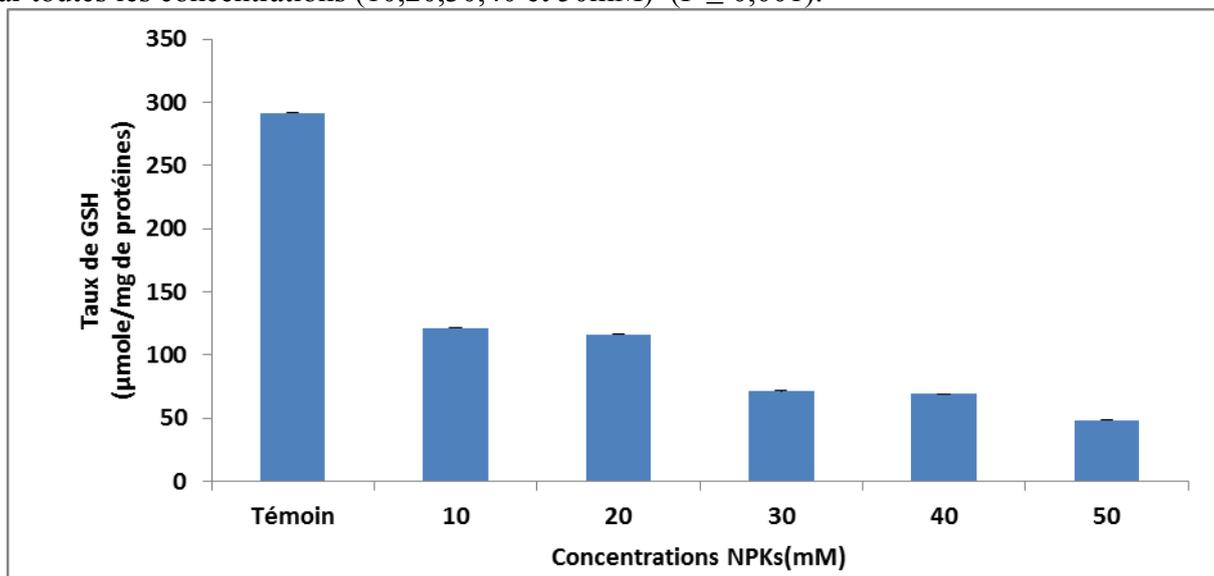


Figure 14 . Effets de NPKs sur le taux de glutathion chez *Ramalina farinacea*

La figure (14), montre l'effet de NPKs sur le taux de GSH chez *R. farinacea*. Nous remarquons que le traitement des lichens par le NPKs provoque une diminution progressive et significative du taux de GSH chez les traités à la plus forte concentration (**50mM**), nous enregistrons un taux de **(48,56±0,21) µmole/mg de protéines**. Alors que celui du témoin est de l'ordre de : **(291,55±0,24) µmole/mg de protéines**.

Après un traitement de 3jours, l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre des traités par toutes les concentrations (10,20,30,40 et 50mM) ($P \leq 0,001$) par rapport aux témoins.

1.6. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur l'activité GST

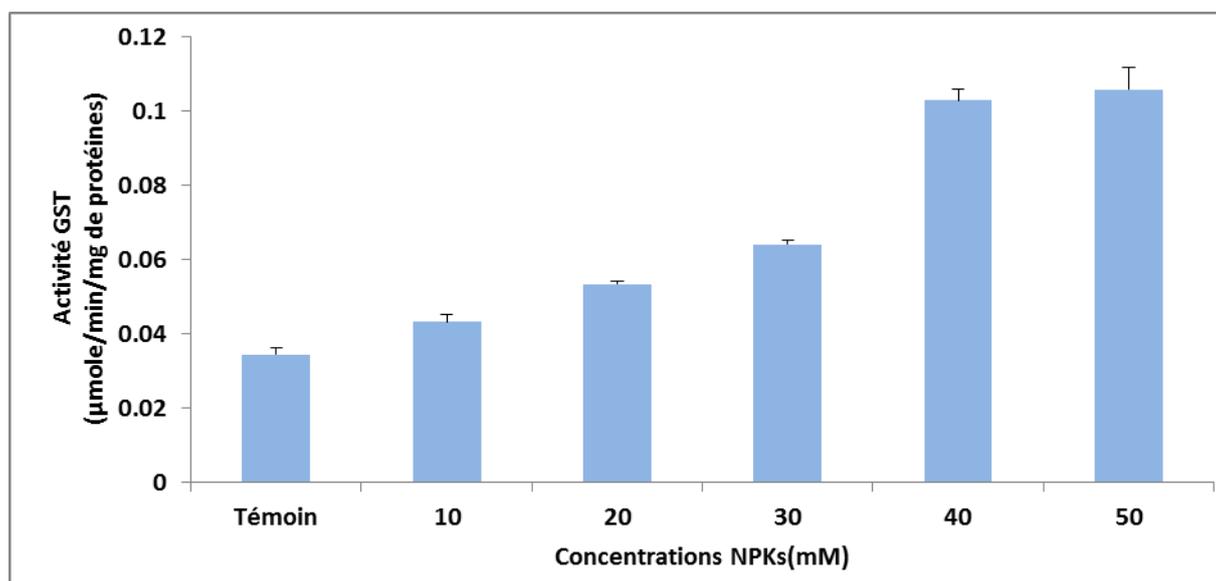


Figure 15. Effets de NPKs sur les variations de l'activité de glutathion-S-transférase chez *Leucodon sciuroides*

La figure (15), met en évidence les variations de l'activité GST en présence de concentrations croissantes de NPKs chez les mousses. Nous constatons que le taux de glutathion-S-transférase tend à augmenter d'une manière dose –dépendante. Cette augmentation est maximale chez les traités avec la concentration **50mM** où ce taux atteint **0,106(±0,006)µmole/min/mg de protéines**. Alors que chez les traités avec la concentration **10mM**, le taux de glutathion-S-transférase est faible **(0,0432(±0,0021)) µmole/min/mg de protéines** et proche de celle des témoins.

Après un traitement de 3jours, l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les témoins et les traités avec toutes les concentrations (10,20, 30, 40 et 50mM) ($P \leq 0,001$).

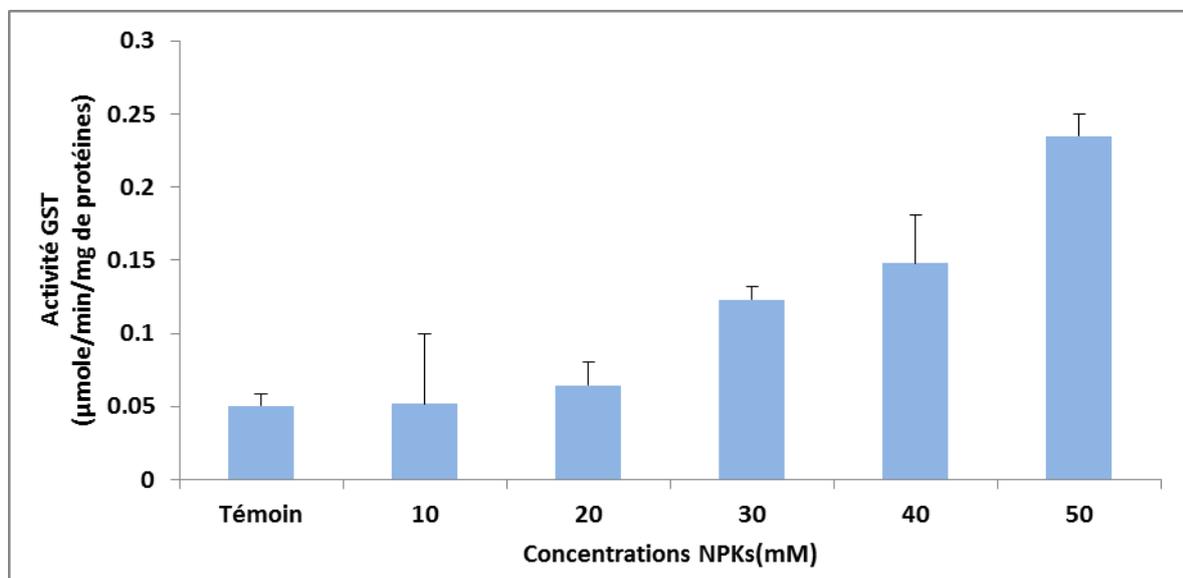


Figure 16. Effets de NPKs sur les variations de l'activité de glutathion-S-transférase chez *Ramalina farinacea*

La figure (16), met en évidence les variations de l'activité GST en présence de concentrations croissantes de NPKs chez les lichens.

Nous constatons que suite à un séjour des échantillons dans des solutions de NPKs, l'activité GST est dose-dépendante ; retenons que chez les échantillons traités à la plus faible concentration **10mM**, l'activité est presque égale à celle du témoin (**0,0519±0,048**) **μmole/min/mg de protéines**. Tandis que, l'activité observée avec la plus forte concentration **50mM**, est de l'ordre de (**0,253±0,015**) **μmole/min/mg de protéines**, environ 5 fois plus élevée que chez ceux traités par la concentration **10mM** ou les témoins. En revanche, après un traitement de 3jours, l'analyse statistique révèle des différences non significatives entre les témoins et les traités avec toutes les concentrations (10,20, 30, 40 et 50mM) ($p \geq 0,05$).

1.7. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les activités CAT

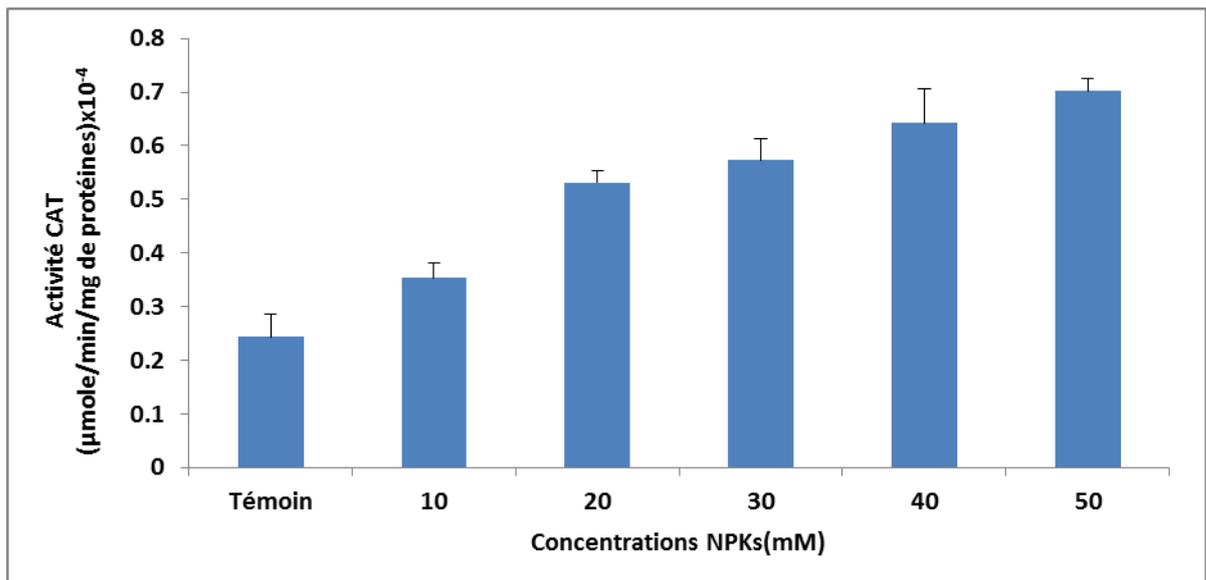


Figure 17. Variations de l'activité catalase chez *Leucodon sciuroides* traité avec des concentrations croissantes de NPKs.

La figure (17), illustre l'effet des différentes concentrations de NPKs sur l'activité enzymatique catalase chez les mousses. Nous constatons que cette activité tend à augmenter en fonction des concentrations NPKs.

Cette augmentation est significative chez les traités avec la plus forte concentration (**50mM**) avec **$(0,702 \pm 0,022) \times 10^{-4} \mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg de protéines}$** , alors que chez les témoins ce taux ne dépasse pas **$(0,244 \pm 0,041) \times 10^{-4} \mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg de protéines}$** .

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre l'activité catalase chez les témoins et les traités par les concentrations (20,30,40 et 50mM) ($p \leq 0,001$). Tandis qu'une différence significative a été révélée pour les traités par la concentration (10mM) ($P \leq 0,05$).

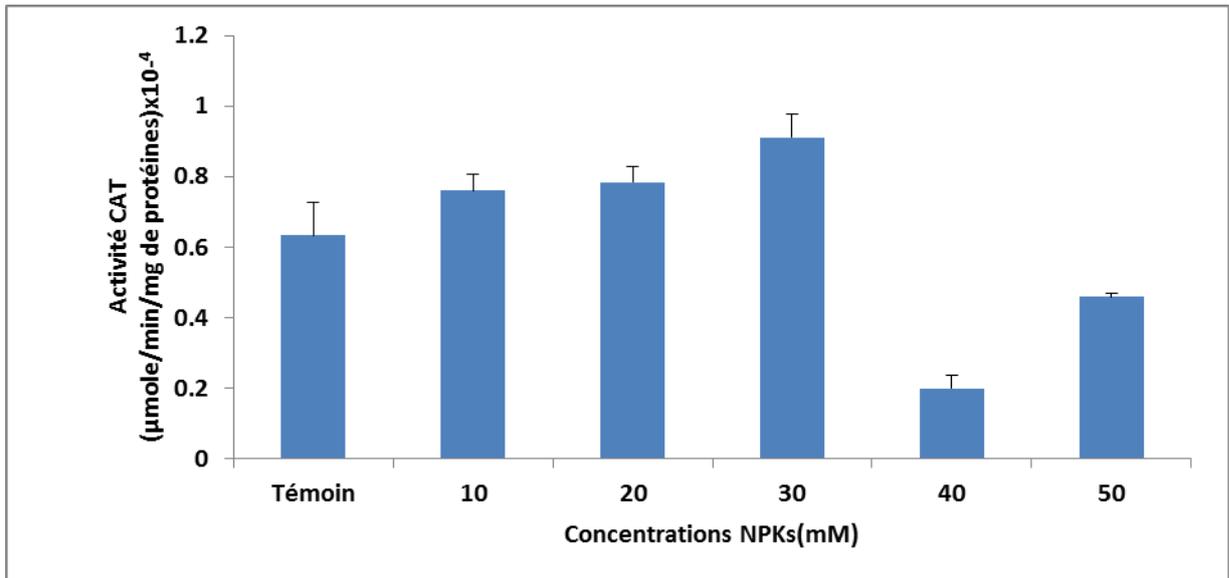


Figure 18. Variations de l'activité catalase chez *Ramalina farinacea* traité avec des concentrations croissantes de NPKs.

La figure (18), montre que le **NPKs** perturbe les activités de la catalase chez les lichens. Cette perturbation confirme une toxicité de cet engrais traduite par une stimulation de l'activité catalase jusqu'à la concentration **30mM** : $(0,911 \pm 0,065) \times 10^{-4} \mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg de protéines}$.

L'analyse statistique révèle une différence hautement significative entre l'activité de la catalase chez les témoins et les traités par la concentration (40mM) ($p \leq 0,01$). Tandis que, des différences significatives ont été révélées pour les traités par les concentrations (30 et 50mM) ($P \leq 0,05$) et des différences non significatives entre les témoins et les traités par les concentrations (10 et 20mM) ($p \geq 0,05$).

1.8. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur l'activité APX

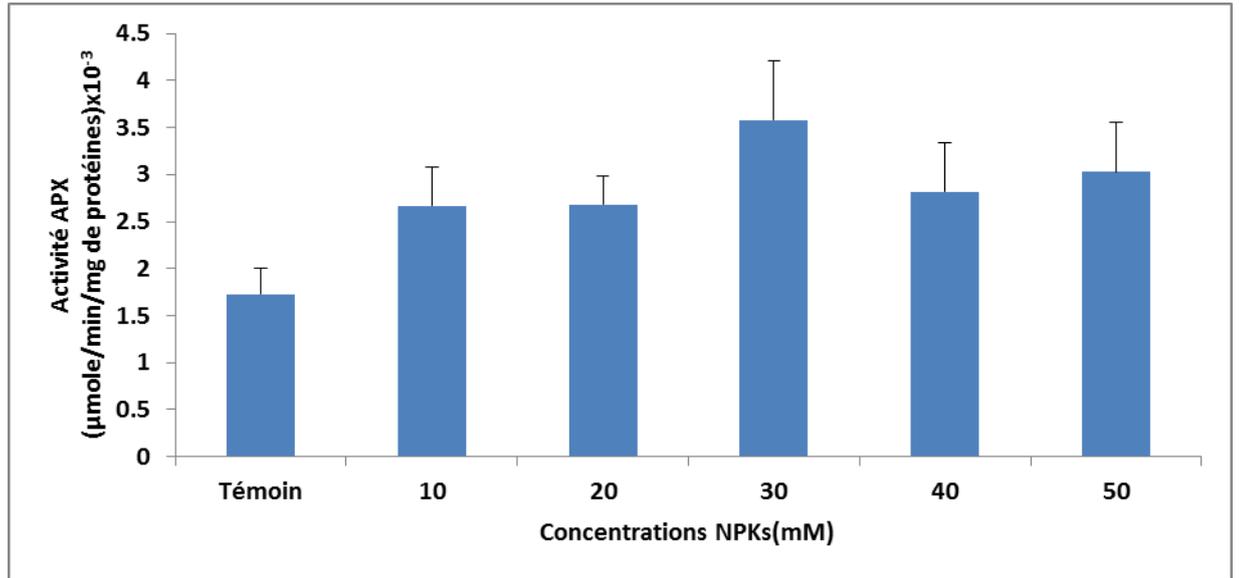


Figure 19. Variations de l'activité de l'Ascorbat peroxydase chez *Leucodon sciuroides* traité avec des concentrations croissantes de NPKs.

La figure (19), reflète l'évolution de l'activité ascorbate peroxydase des mousses en fonction de concentrations croissantes de NPKs. Nous constatons que les activités APx sont élevées pour la concentration 30mM : $(3,58 \pm 0,063) \times 10^{-3} \mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg de protéines}$ par rapport aux témoins.

L'analyse statistique révèle une différence hautement significative entre l'activité de l'ascorbat peroxydase chez les témoins et traités par la concentration (30mM) ($p \leq 0,01$). Tandis que, des différences significatives ont été révélés pour les traités par les concentrations (10,20,40 et 50mM) ($P \leq 0,05$).

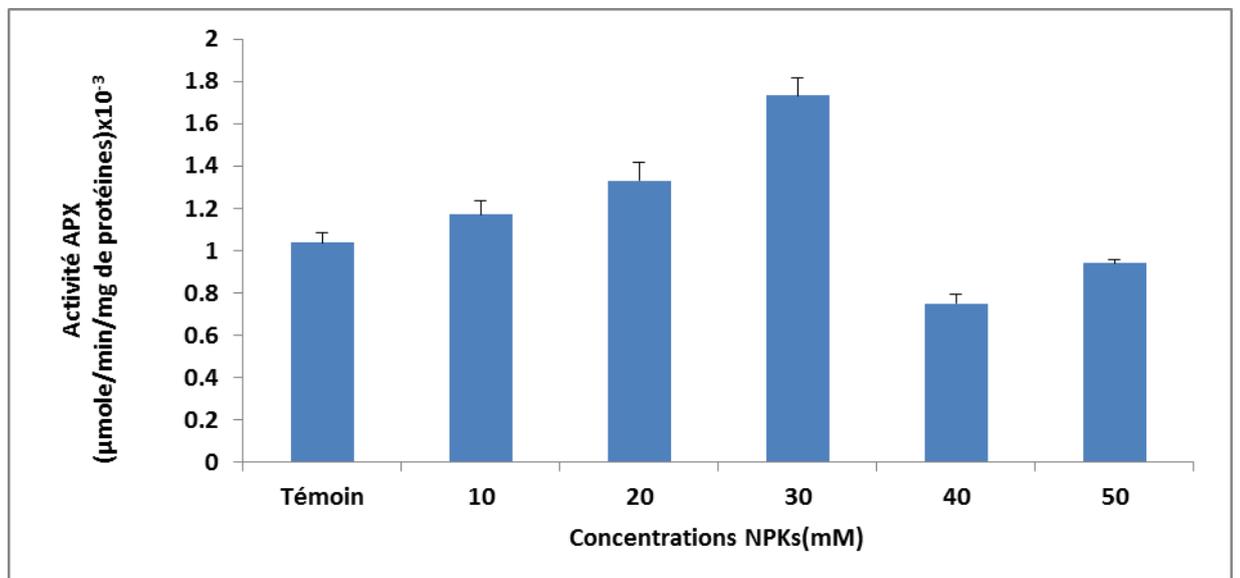


Figure 20. Variations de l'activité de l'Ascorbat peroxydase chez *Ramalina farinacea* traité avec des concentrations croissantes de NPKs.

Les variations de l'activité **APx** des lichens sont illustrées dans la figure (20). Nous constatons que cette activité est très élevée à la concentration **30mM** avec $(1,733 \pm 0,85) \times 10^3 \mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines.

L'analyse statistique révèle une différence très hautement significative entre l'activité de l'ascorbat peroxydase des témoins et traités par la concentration (30mM) avec ($p \leq 0,001$), et des différences hautement significatives pour les traités des concentrations (20 et 40mM) ($P \leq 0,01$). Cependant, une différence significative a été révélée entre les témoins et les traités par la concentration (10mM) ($P \leq 0,05$), cette différence est non significative pour les traités avec la concentration (50mM) ($P \geq 0,05$).

1.9. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le taux MDA

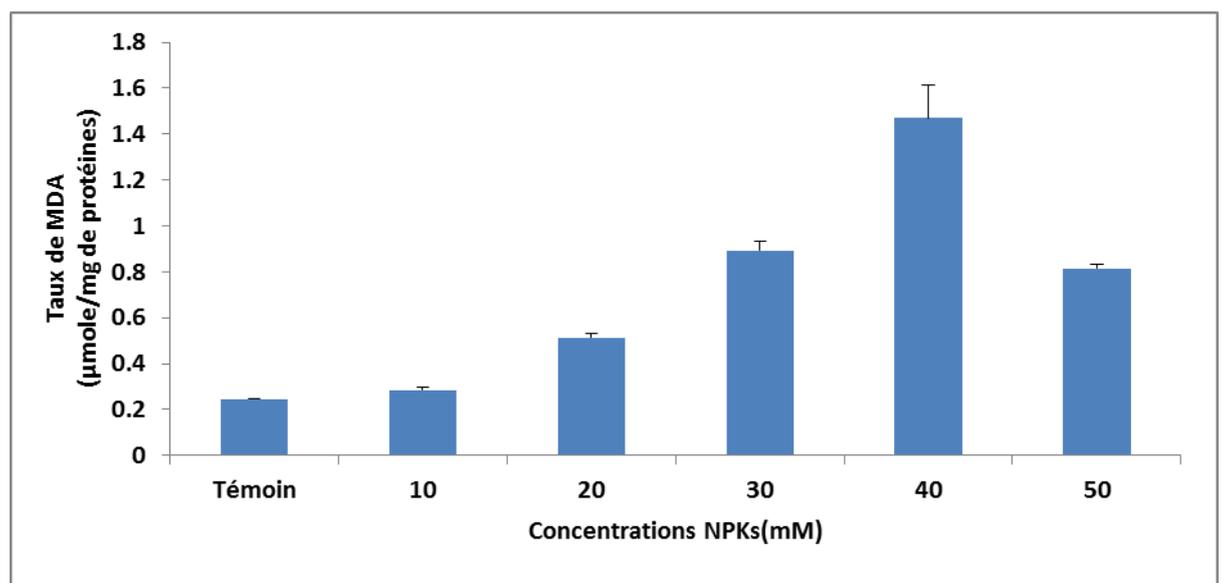


Figure 21. Effets de concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux de malondialdéhyde chez *Leucodon sciuroides*

La figure (21), met en évidence les variations du taux de MDA chez *L.sciuroides*.

Nous constatons que ce taux est élevé et supérieur à celui des témoins, particulièrement pour la concentration 40mM avec $(1,469 \pm 0,14) \mu\text{mole}/\text{mg}$ de protéines, par rapport aux témoins, dont le taux est de $(0,245 \pm 0,018) \mu\text{mole}/\text{mg}$ de protéines.

L'analyse statistique révèle une différence hautement significative pour la concentration 10mM ($P \leq 0,01$). Cependant, des différences très hautement significatives ont été révélées entre les témoins et les traités par les concentrations (20,30, 40 et 50 mM) ($P \leq 0,001$).

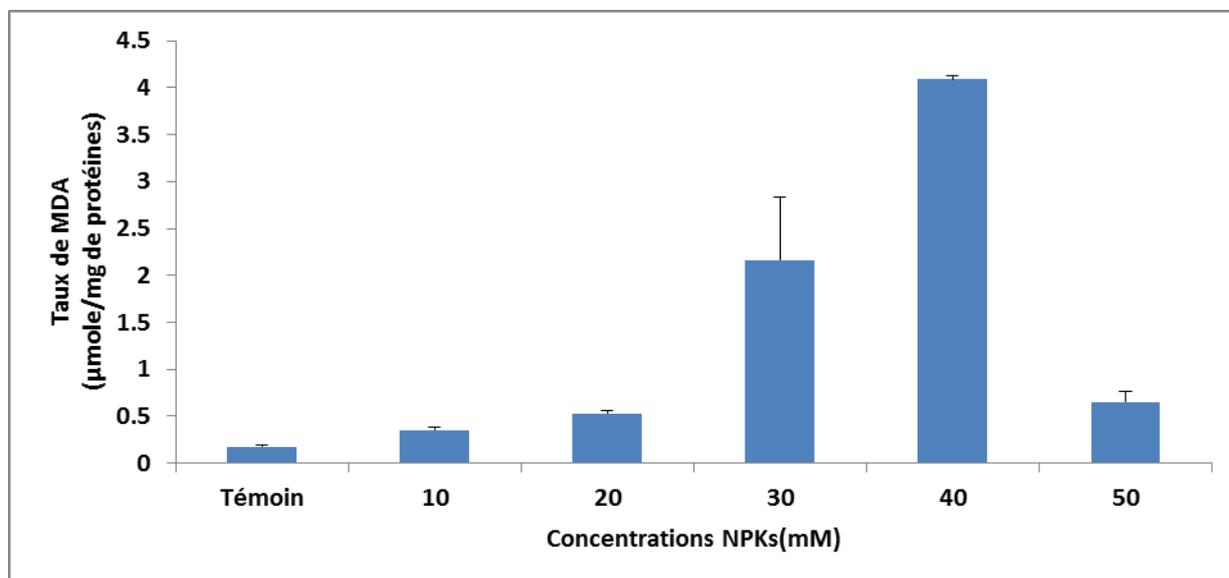


Figure 22. Effets de concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux de malondialdéhyde chez *Ramalina farinacea*

La figure (22), illustre l'effet de NPKs sur les variations du taux chez *R.farinacea*.

Nous constatons que chez les témoins, le taux de MDA est faible : **(0,176±0,014) µmole/mg de protéines** ; alors qu'un taux plus élevé est observé avec la concentration **40mM : ((4,09±0,04) µmole/mg de protéines)**. Avec la concentration de **50mM**, le taux de MDA diminue et atteint environ : **(0,651±0,011) µmole/mg de protéines)**.

L'Analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les témoins et les traités par les concentrations (10,20,et 40 mM) ($P \leq 0,001$).Cependant, des différences hautement significatives ont été révéler par les concentrations (30 et 50mM) ($P \leq 0,01$).

1.10.Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le métabolisme photosynthétique et respiratoire des mousses et des lichens

1.10.1.Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le métabolisme photosynthétique des mousses et des lichens

D'après cette figure (23) qui illustre l'effet des différentes concentrations de NPKs sur le métabolisme photosynthétique des lichens de l'espèce *Ramalina farinacea* , et après un traitement de 3 jours, on observe une nette augmentation de la quantité d'O₂ produite dans le milieu dès la 2^{ème} minute d'enregistrement pour tous les échantillons .

Le minimum de cette quantité a été enregistré au temps (10min) pour l'échantillon témoin qui atteint : **6 nmole d'O₂/100mg de PF**.

L'échantillon traité avec la concentration 40mM, présente la quantité produite la plus élevée jusqu'au temps (10 min),soit : **22 nmole d'O₂/100mg de PF** (augmentation $\approx 72\%$ par rapport au témoin).Concernant les échantillons traités avec les autres concentrations (10,20,30 et 50mM) ,présentent des quantités d'oxygène produites supérieures à celles du témoin d'où une stimulation de la photosynthèse.

L'analyse statistique a révéler des différences très hautement significatives entre la photosynthèse des échantillons témoins et traités aux différentes concentrations de NPKs ($p < 0,001$).

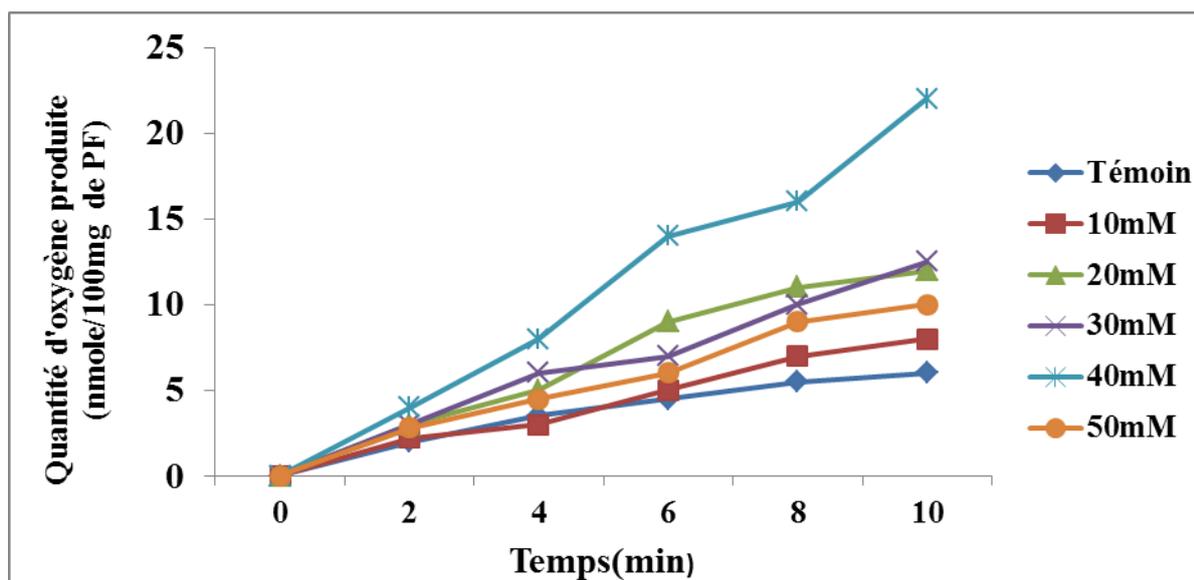


Figure 23. Effet de NPKs sur le métabolisme photosynthétique chez *Ramalina farinacea*

La figure suivante (24), illustre l'effet des différentes concentrations de NPKs sur le métabolisme photosynthétique des mousses où on remarque une libération d'O₂ dans le milieu pour les échantillons témoins ainsi que pour les échantillons traités avec les 5 concentrations choisies.

On observe une nette augmentation de la quantité d'O₂ produite dans le milieu dès la 4^{ème} minute d'enregistrement pour les échantillons témoins. Le minimum de cette quantité a été enregistré au temps (10min) pour l'échantillon traité avec la concentration 30mM, qui atteint : **10 nmole d'O₂/100mg de PF** (Inférieur à celle du témoin : **11 nmole d'O₂/100mg de PF**).

Tandis que l'échantillon traité avec la concentration 20mM présente la quantité produite la plus élevée jusqu'au temps (10 min), soit : **15 nmole d'O₂/100mg de PF**. Concernant les échantillons traités avec les autres concentrations (10,40 et 50mM), présentent des quantités d'oxygène produites supérieures à celles du témoin d'où une stimulation de la photosynthèse.

L'analyse statistique a révélé des différences très hautement significatives entre la photosynthèse des échantillons témoins et traités avec ($p < 0.001$).

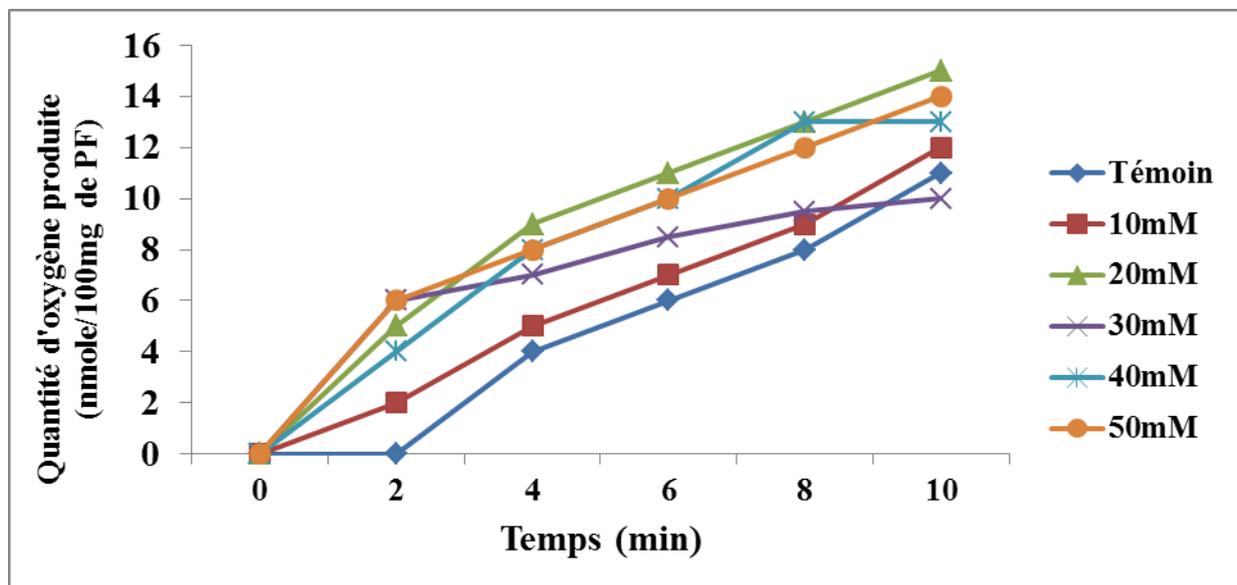


Figure 24. Effet de NPKs sur le métabolisme photosynthétique chez *Leucodon sciuroides*

1.10.2. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le métabolisme respiratoire des mousses et des lichens :

D'après cette figure (25) qui illustre l'effet de différentes concentrations de NPKs sur le métabolisme respiratoire des lichens, on constate que toutes les courbes commencent à partir d'un même point environ **380 nmole d'O₂**. Chez les lichens témoins, la vitesse d'oxydation est de **0 nmole d'O₂/min** d'où une inhibition de la respiration.

Le traitement des échantillons avec les différentes concentrations de NPKs, provoque une accélération de la vitesse d'oxydation soit : **9 nmole d'O₂/min** pour l'échantillon traité avec la concentration 40mM et un maximum de cette vitesse de **10 nmole d'O₂/min** a été enregistré chez l'échantillon de 50mM. Pour les autres échantillons (10,20 et 30mM), les vitesses d'oxydation obtenus sont respectivement : **2, 4 et 6 nmole d'O₂/min** et sont toutes supérieures à celles des lichens témoins d'où une stimulation du métabolisme respiratoire.

L'analyse statistique révèle des différences très

significatives entre la respiration des échantillons témoins et traités avec ($p < 0.001$).

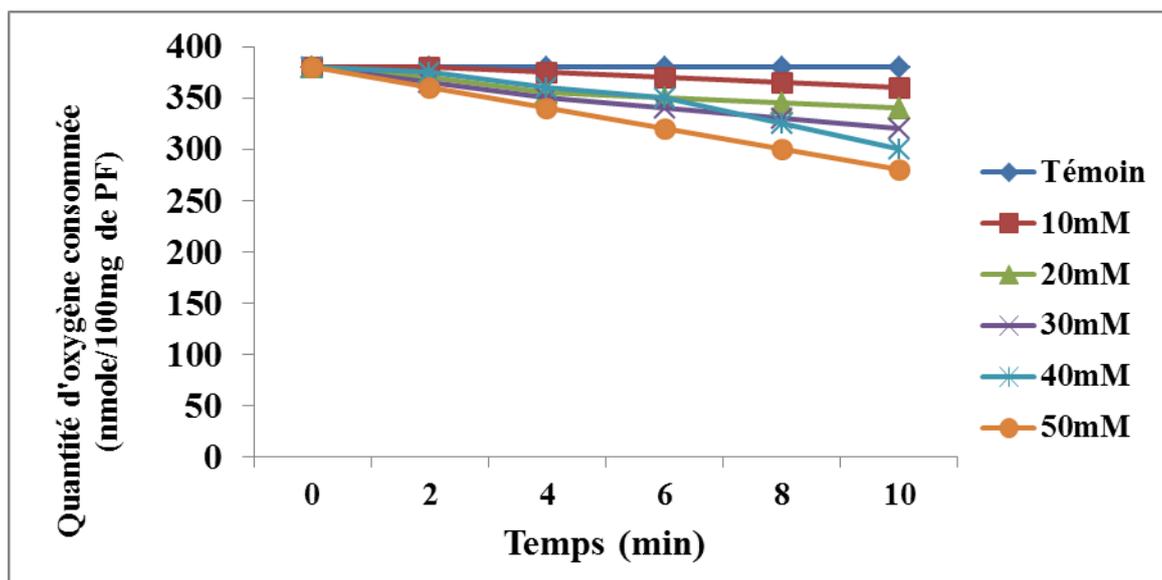


Figure 25. Effet de NPKs sur le métabolisme respiratoire chez *Ramalina farinacea*

Cette figure (26), illustre l'effet de traitement de NPKs pendant 3 jours, sur le métabolisme respiratoire des mousses.

On constate que les mousses témoins présentent une respiration qui démarre à **340 nmole d'O₂** et atteint **320 nmole d'O₂** après 10min, la vitesse d'oxydation moyenne est **2 nmole d'O₂/min**. Ce traitement provoque une accélération observée à partir de la 2^{ème} minute surtout au niveau des échantillons traités avec la concentration 40mM où la vitesse d'oxydation est : **10 nmole d'O₂/min**). En effet, cette vitesse est de l'ordre de **4, 6, 8 et 9 nmole d'O₂/min** respectivement chez les échantillons traités avec 10, 20, 30 et 50mM de NPKs..

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre la respiration des échantillons témoins et traités avec ($p < 0.001$).

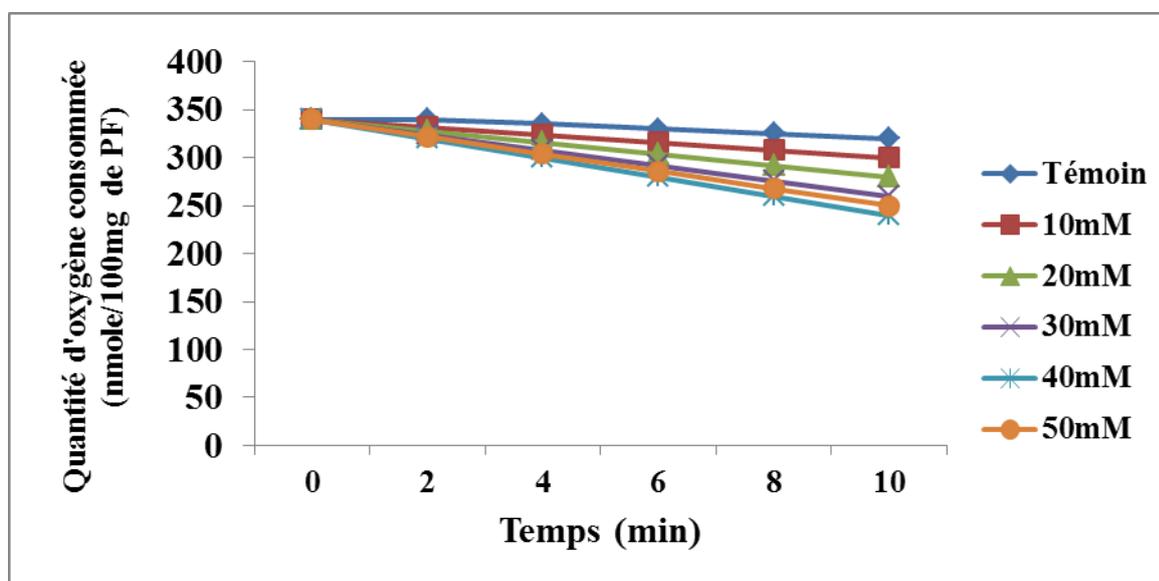


Figure 26. Effet de NPKs sur le métabolisme respiratoire chez *Leucodon sciuroides*

2. Traitement 7 jours

2.1. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux de proline

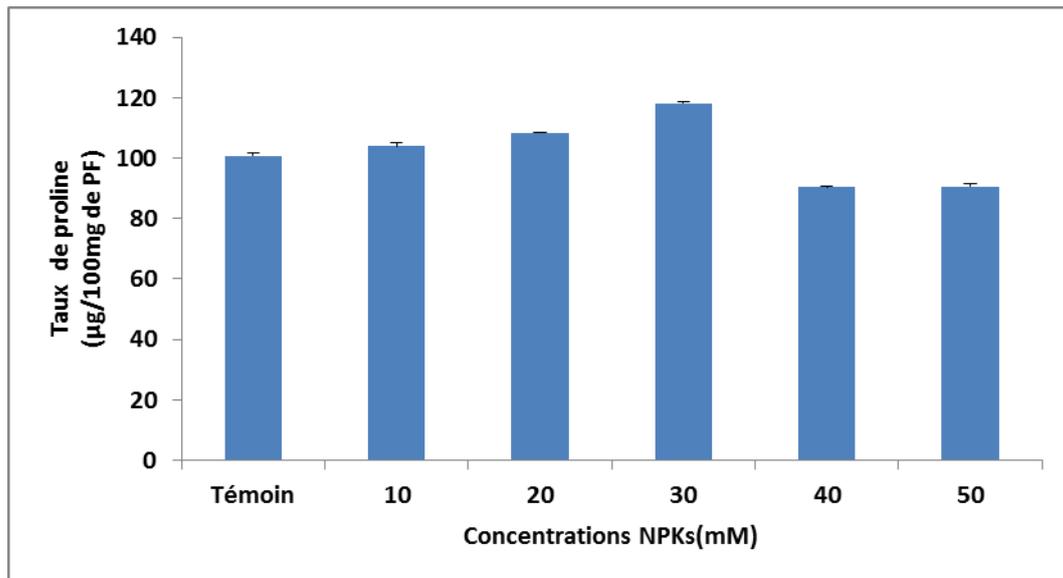


Figure 27. Effets de NPKs sur les variations du taux de proline chez *Leucodon sciuroides*

La figure (27) , illustre les variations du taux de proline chez les mousses (*L.sciuroides*) en présence de concentrations croissantes de NPKs .

Les échantillons traités avec les concentrations (10,20 et 30mM) présentent des teneurs croissantes en proline proportionnelles aux concentrations de NPKs. Nous constatons que le taux de proline observé avec les plus fortes concentrations (40 et 50mM), est équivalent à celui des témoins avec un taux d'environ 100,72µg/100mg de PF.

L'analyse statistique révèle des différences significatives entre le taux de proline chez les traités par la concentration 10mM ($p \leq 0,005$), ainsi que des différences très hautement significatives pour les traités par les concentrations (20,30,40 et 50mM) par rapport aux témoins ($P \leq 0,001$).

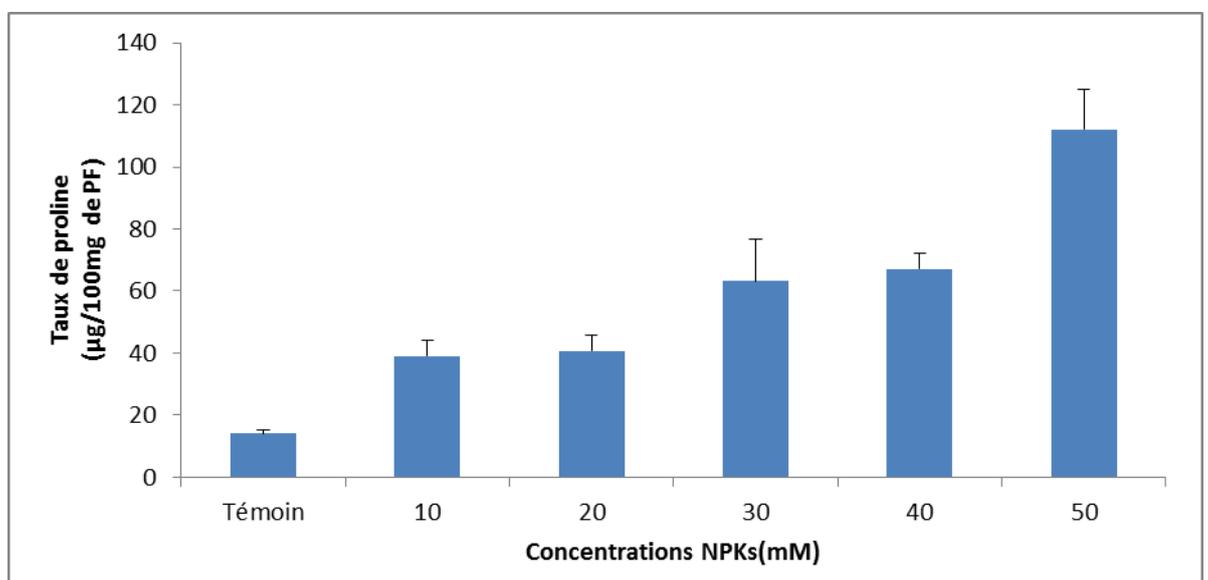


Figure 28. Effets de NPKs sur les variations du taux de proline chez *Ramalina farinacea*

La figure (28) montre que, les taux de proline tend à augmenter d'une manière dose-dépendante chez les traités. Ainsi, chez les échantillons traités à la plus forte concentration **50mM**, le taux de proline est de : **(112,03 μ g/100mg PF) (\pm 12.82)** est presque deux fois plus important que celui observé chez les échantillons traités avec les concentrations : **30 et 40 mM** qui sont respectivement : **63,27(\pm 13.61)** et **67,14(\pm 5.17) μ g/100mg PF.**

D'autre part, l'analyse statistique révèle une différence hautement significative pour les traités par la concentration **30mM** ($P \leq 0,01$), et une différence très hautement significative pour les traités par les autres concentrations (**10,20,40 et 50mM**) par rapport aux témoins ($P \leq 0,001$).

2.2. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les teneurs moyennes des sucres totaux

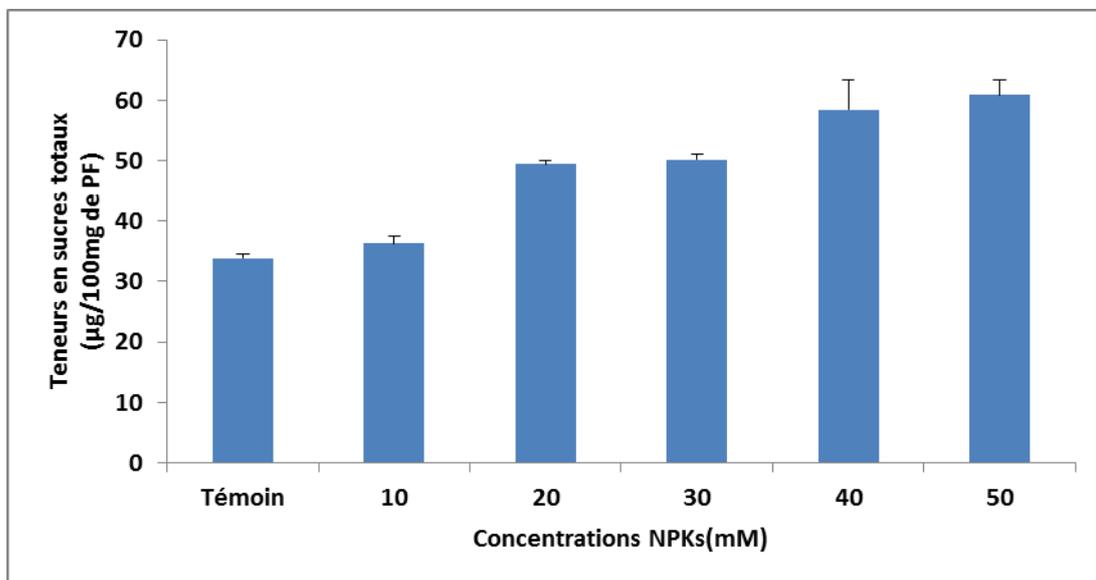


Figure 29. Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes des sucres totaux chez *Leucodon sciuroides*

La figure (29), illustre les variations des teneurs en sucres totaux chez les mousses traités par différentes concentrations de NPKs.

Nous constatons qu'au niveau de l'échantillon témoin, la teneur moyenne en sucres totaux est réduite (**33,88 μ g/100mg de PF (\pm 0,61)**) par rapport aux traités qui augmente d'une manière dose-dépendante.

Ainsi, chez l'échantillon traité avec la plus forte concentration de NPKs (**50mM**), la teneur en sucres totaux est environ deux fois plus importante (**60,88 μ g/100mg de PF (\pm 2,45)**) que celle observée chez l'échantillon témoin **33,88 μ g/100mg de PF (\pm 0,61).**

D'autre part l'analyse statistique révèle une différence significative entre le taux des glucides chez les témoins et les traités par la concentration **10mM** ($P \leq 0,05$), et des différences très hautement significatives chez les traités avec les concentrations (**20,30,40 et 50mM**) ($P \leq 0,001$).

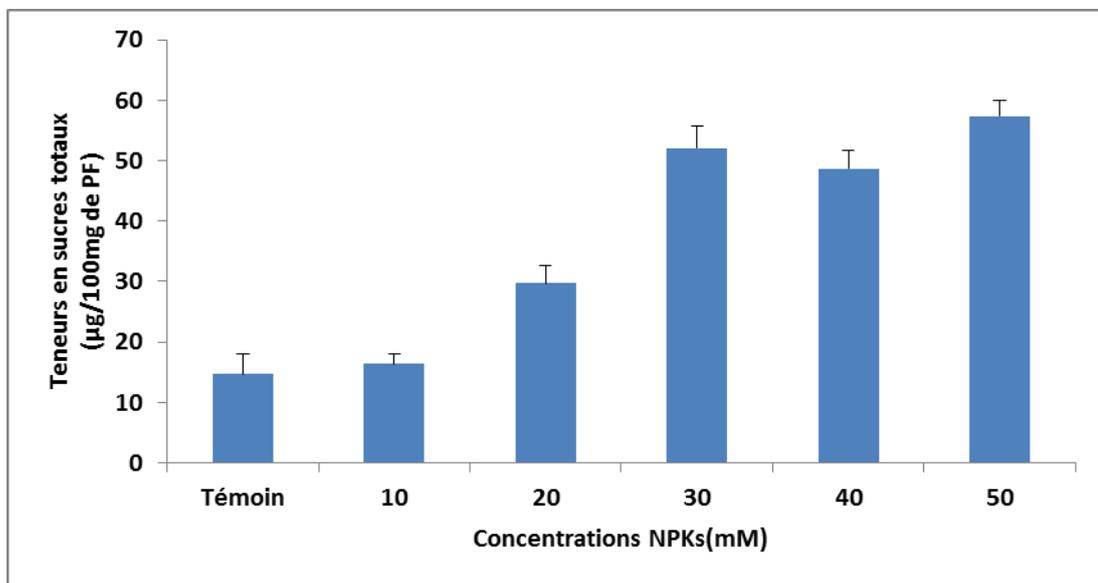


Figure 30. Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes de sucres totaux chez *Ramalina farinacea*

La figure (30), illustre les effets des NPKs sur les teneurs moyennes en sucres totaux chez *R. farinacea*. Nous constatons que ce taux tend à augmenter en fonction des concentrations de NPKs. Cette augmentation est significative chez les traités avec la plus forte concentration **50mM** où le taux de sucres atteint **57.33 µg/100mg de PF (±2.67)**, alors que chez les témoins ce taux ne dépasse pas **14.7 µg/100mg de PF (±3.24)**.

D'autre part, l'analyse statistique ne révèle des différences très hautement significatives que chez les traités avec les concentrations (30,40 et 50mM) ($P \leq 0.001$), ainsi qu'une différence hautement significative pour les traités par les concentrations (20mM) ($P \leq 0.01$) par rapport aux témoins. En revanche, les témoins et les traités avec la plus faible concentration (10mM) ne présente aucune différence significative ($P \geq 0,05$).

2.3. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les teneurs moyennes de protéines totales

Afin de mieux cerner les effets du NPKs sur le métabolisme des modèles biologiques étudiés, nous avons procédé en premier lieu au dosage des protéines totales.

Le tableau (4), met en évidence les variations des teneurs moyennes de protéines totales, en fonction de concentrations croissantes de NPKs chez les mousses. Nous constatons que chez les traités, le taux des protéines totales tend à augmenter d'une manière dose-dépendante.

Tableau 4. Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes de protéines totales chez *Leucodon sciuroides*.

Traitement NPKs : (g/l) → (mM) →	0	2,48	4,96	7,44	9,92	12,4
	0	10	20	30	40	50
Teneurs en Protéines (µg/100mg de MS)	9,22±0,045	15,94±0,02 ***	23,14±0,15 ***	28,17±0,10 ***	28,75±0,72 ***	30,85±0,30 ***

Ainsi, le traitement par le NPKs provoque une augmentation significative du taux des protéines totales avec un taux de : **30,85 µg/100mg de PF** de matière sèche à la plus forte concentration (**50mM**) comparés aux taux observés chez les témoins qui est de l'ordre de : **9,22 µg/100mg** de matière sèche. Les traités **10mM** présentent un taux de **50%** moins élevé par rapport à celui des traités à la plus forte concentration (**50mM**).

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre le taux des protéines chez les traités par toutes les concentrations par rapport aux témoins ($P \leq 0,001$).

Tableau 5. Effets de NPKs sur les variations des teneurs moyennes de protéines totales chez *Ramalina farinacea*

Traitement NPKs : (g/l) → (mM) →	0	2,48	4,96	7,44	9,92	12,4
	0	10	20	30	40	50
Teneurs en Protéines (µg/100mg de MS)	28,62±0,65	30,85±0,65 *	31,51±0,40 **	33,05±0,96 **	37,04±0,72 ***	37,57±0,017 ***

Le tableau (5), met en évidence les variations du taux de protéines totales en présence de concentrations croissantes de NPKs. Nous remarquons une stimulation dose-dépendante de la synthèse des protéines, qui constitue l'un des métabolismes cellulaires primordiaux.

D'autre part, l'analyse statistique révèle une différence significative pour les traités par la concentration (10mM) ($P \leq 0,05$), une différence hautement significative pour les traités par les deux concentrations (20 et 30 mM) ($P \leq 0,01$) et une différence très hautement significative pour les traités par les deux plus fortes concentrations (40 et 50mM) ($P \leq 0,001$) et ce toujours par rapport aux témoins.

2.4.Effets de NPKs sur les variations des teneurs des chlorophylles (*a,b* et *a+b*)

Les figures (31 et 32), rassemblent les teneurs moyennes des chlorophylles (*a,b* et *a+b*) chez les mousses et les lichens suite au traitement par le NPKs.

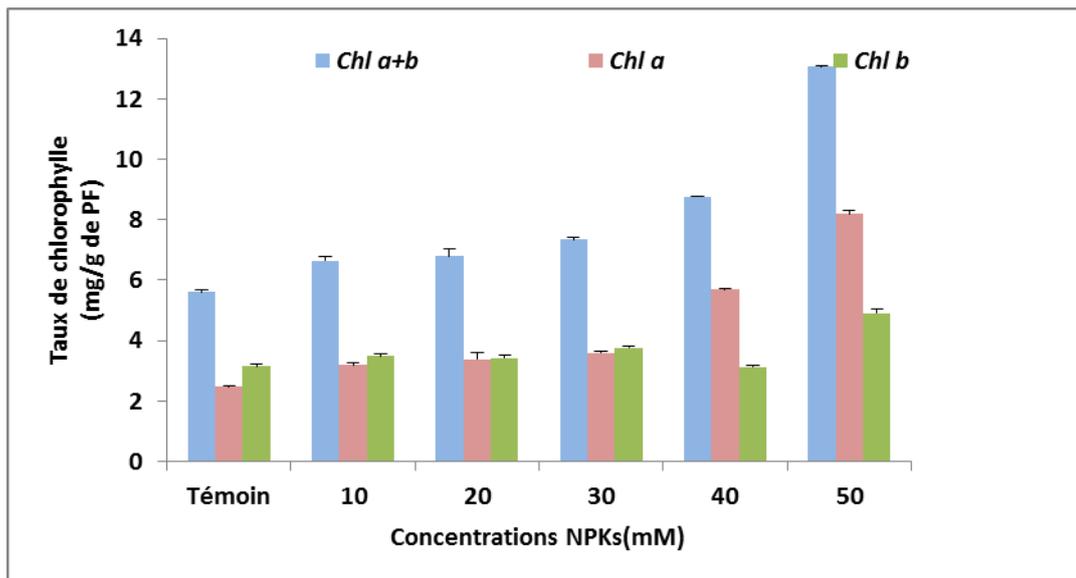


Figure 31. Variations des teneurs de chlorophylles (*a,b* et *a+b*) chez *Leucodon sciuroides* en fonction des concentrations de NPKs

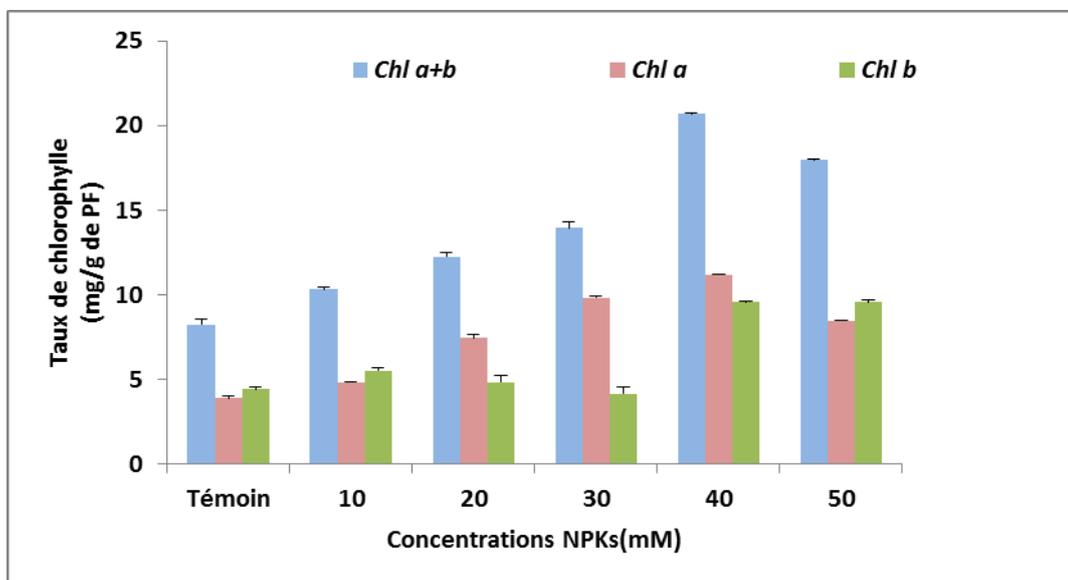


Figure 32. Variations des teneurs de chlorophylles (*a,b* et *a+b*) chez *Ramalina farinacea* en fonction des concentrations de NPKs

Chez les mousses comme chez les lichens, il apparaît clairement que les teneurs en chlorophylles *a,b* et (*a+b*) augmentent d'une manière dose-dépendante de NPKs.

L'activité photosynthétique semble sensible aux concentrations **40 et 50mM**, chez les lichens. Alors que chez les mousses, cette activité est maximale aux concentrations **50mM**.

En effet, les traités des deux végétaux présentent tous des teneurs significativement plus élevées en chlorophylles (*a*) par rapport à l'échantillon témoin et par conséquent une augmentation des teneurs moyennes en chlorophylles (*a+b*).

Chez les lichens, l'analyse statistique a révélé des différences très hautement significatives entre le taux de chlorophylle (*a*) et (*a+b*) chez les témoins et les traités par toutes les concentrations ($P \leq 0,001$). Cependant, l'analyse statistique ne révèle aucune différence significative entre le taux de chlorophylle (*b*) chez les témoins et les traités par les deux concentrations (20 et 30mM).

($P \geq 0,05$), et révèle de différences très hautement significatives chez les traités avec les concentrations (10,40 et 50mM) ($P \leq 0,001$).

Chez les mousses, l'analyse statistique a révélé des différences très hautement significatives entre le taux de chlorophylle (a) et ($a+b$) chez les témoins et les traités par toutes les concentrations ($P \leq 0,001$). Une seule différence hautement significative a été observée avec le traitement par la concentration 20mM ($P \leq 0,01$) et ce pour la chlorophylle (a). Cependant, l'analyse statistique ne révèle aucune différence significative entre le taux de chlorophylle (b) chez les témoins et les traités par la concentration 40mM ($P \geq 0,05$), et révèle de différences hautement significatives chez les traités par les concentrations 10 et 20 mM ($P \leq 0,001$). Alors que chez les traités par les deux concentrations 30 et 50mM, l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives ($P \leq 0,001$).

2.5. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le taux de GSH

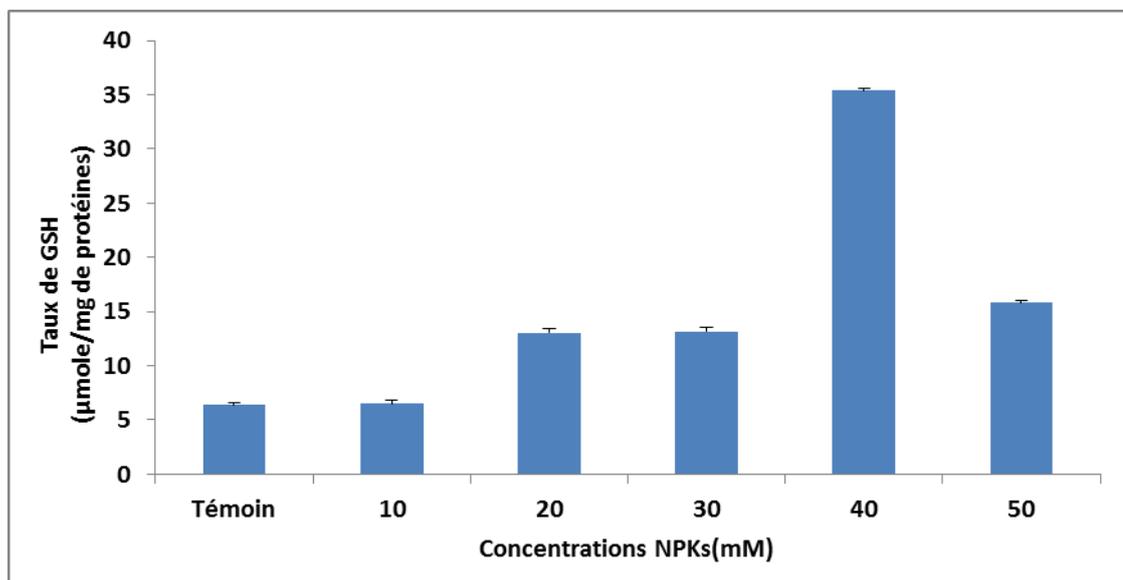


Figure 33. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux de glutathion chez *Leucodon sciuroides*

La Figure (33), représente les variations de GSH chez les mousses traités par des concentrations croissantes de NPKs. Nous constatons une augmentation dose-dépendante du taux de GSH.

L'analyse statistique ne révèle pas de différence significative entre le taux de GSH chez les témoins et les traités par la plus faible concentration 10mM ($P \geq 0,05$). Cependant, des différences très hautement significatives ont été révélées pour les traités par les plus fortes concentrations (20,30,40 et 50mM) par rapport aux témoins ($P \leq 0,001$).

La Figure (34), illustre les variations du taux de GSH en présence de NPKs chez les lichens.

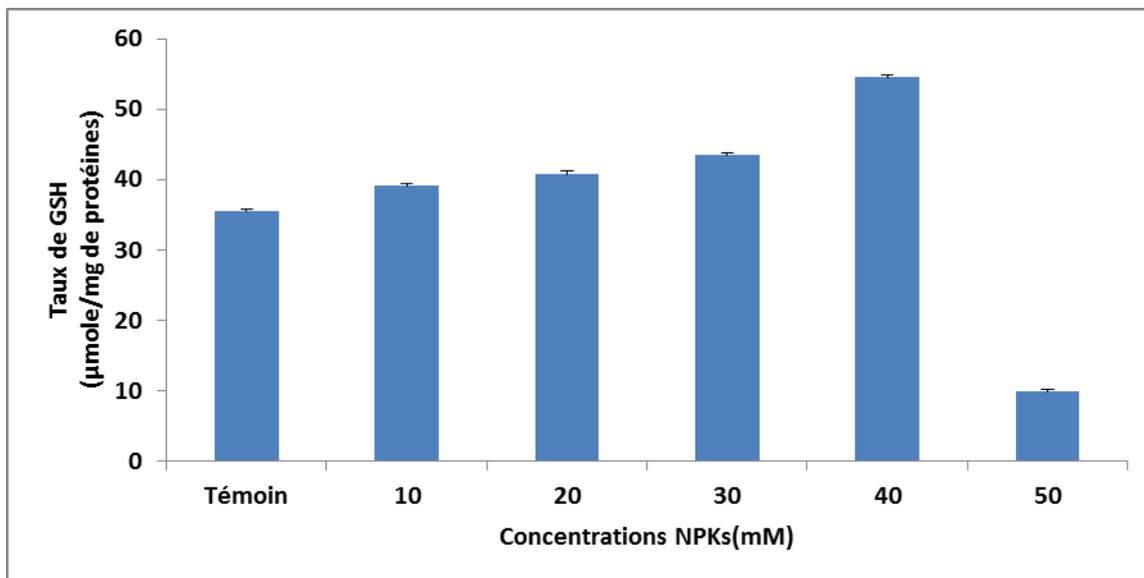


Figure 34. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux de glutathion chez *Ramalina farinacea*

Ainsi en présence du xénobiotique, le taux de glutathion tend à augmenter d'une manière dose-dépendante de NPKs. Cette augmentation est plus importante chez le traité avec la concentration **40mM** où ce taux atteint : **54,69µmole/mg de protéines (±0,41)**.

En revanche,chez le traité avec la plus forte concentration 50mM, le taux de glutathion diminue par rapport au témoin (**9,87µmole/mg de protéines (±0,31)**).

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives pour tous les traités par rapport aux témoins ($P \leq 0.001$).

2.6. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur l'activité GST

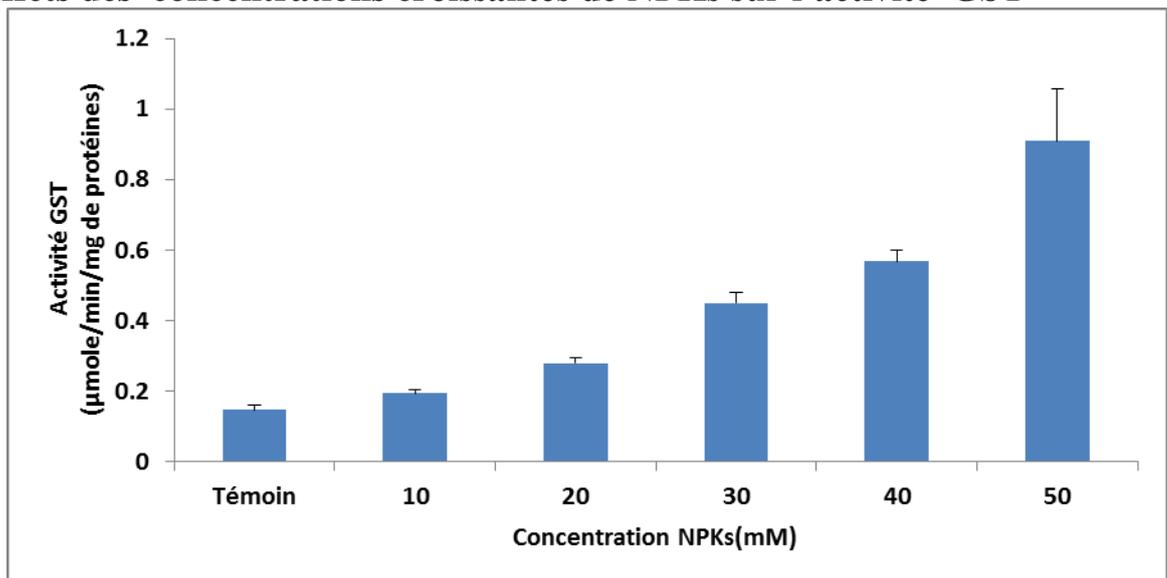


Figure 35. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les variations de l'activité de glutathion-S-transférase chez *Leucodon sciuroides*

La figure (35) illustre l'effet des différentes concentrations de NPKs sur l'activité de GST chez les mousses. Il apparaît clairement que ce traitement stimule l'activité GST d'une manière dose-dépendante. Aussi à la concentration **50mM**, l'activité GST est de **(0,91±0,148) µmole/min/mg de protéines** par rapport au témoin qui est de **(0,146±0,015) µmole/min/mg de protéines**.

L'analyse statistique a révélé une différence hautement significative entre le taux de GST chez les témoins et les traités par la concentration (10mM) ($P \leq 0,01$), des différences très hautement significatives ont été révélées pour les traités par les concentrations (20,30,40 et 50mM) par rapport aux témoins ($P \leq 0,001$).

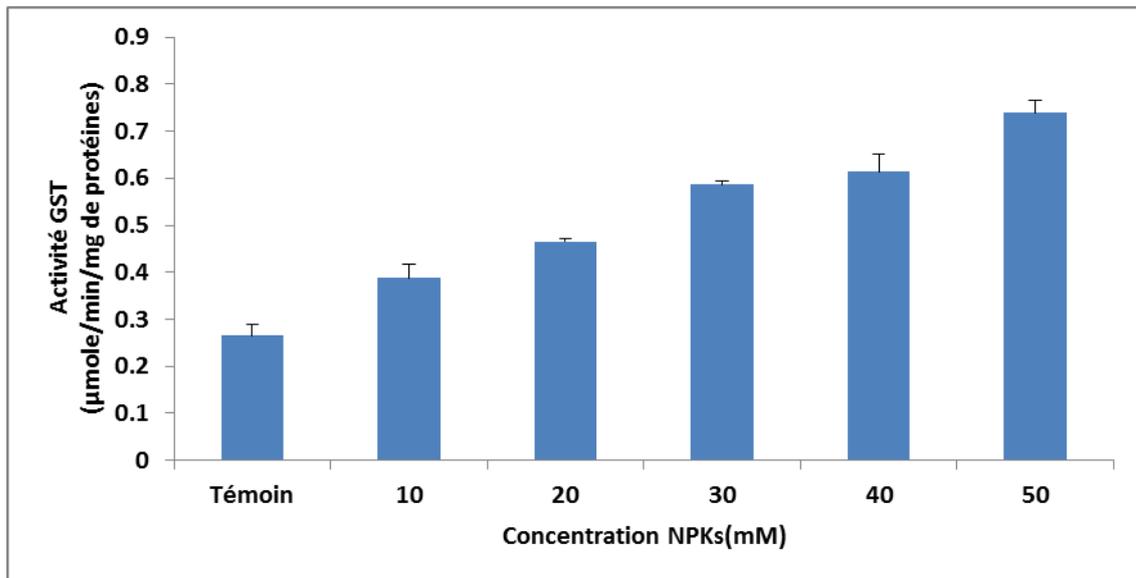


Figure 36. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les variations de l'activité de glutathion-S-transférase chez *Ramalina farinacea*

D'après la figure (36), nous remarquons que, le traitement par le NPKs provoque une augmentation progressive de l'activité GST chez les lichens traités avec un maximum d'activité par la concentration **50mM : ($0,739 \pm 0,027$) μmole/min/mg de protéines.**

Ainsi ce taux de GST augmente de manière significative chez les lichens traités par les concentrations 10 et 20mM par rapport aux témoins ($P \leq 0,05$). L'analyse statistique révèle des différences hautement significatives pour les traités par la concentration (30mM) ($P \leq 0,01$) et des différences très hautement significatives pour les traités par les concentrations (40 et 50mM) ($P \leq 0,001$) et ce toujours par rapport aux témoins.

2.7. Effets de concentrations croissantes de NPKs sur l'activité CAT

La Figure (37), met en évidence les variations de l'activité catalase sous l'effet de concentrations croissantes de NPKs, ainsi en présence du xénobiotique, l'activité catalase tend à augmenter de manière dose-dépendante après (7j) de traitement.

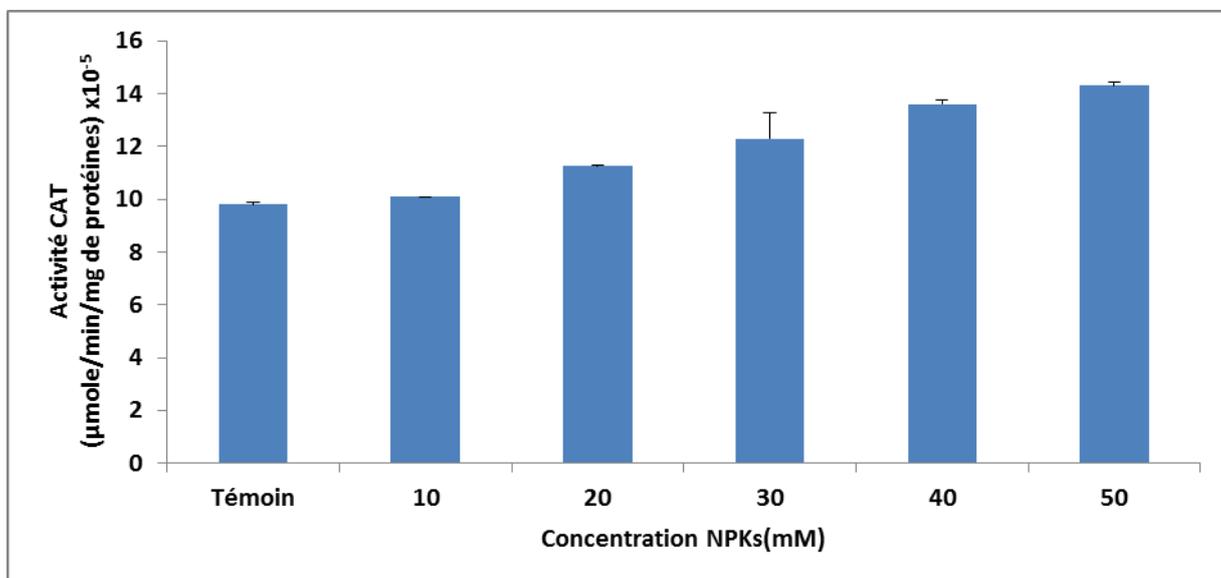


Figure 37. Variations de l'activité de la catalase de *Leucodon sciuroides* traité avec différentes concentrations de NPKs

Cette figure (37) montre que l'activité catalase à la concentration 50mM : $(14,3 \pm 1,18) \times 10^{-5}$ nmole/min/mg de protéines par rapport aux témoins $((9,8 \pm 0,1) \times 10^{-5}$ nmole/min/mg de protéines).

L'analyse statistique révèle une différence significative entre les traités par les concentrations (40mM) et les témoins ($P \leq 0,05$), et des différences hautement significatives entre les témoins et les traités par les concentrations (30 et 50mM) ($P \leq 0,01$). Cependant, cette analyse ne révèle aucune différence entre les témoins et les traités par les concentrations (10 et 20mM) ($P \geq 0,05$).

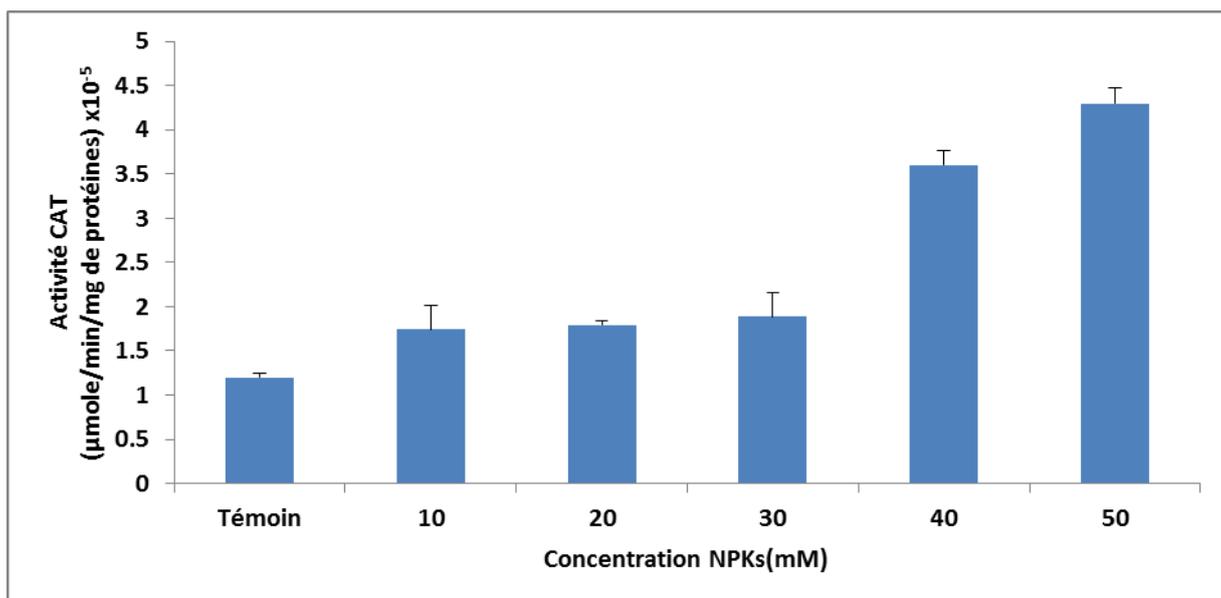


Figure 38. Variations de l'activité de la catalase de *Ramalina farinacea* traité avec différentes concentrations de NPKs

D'après la figure (38), l'activité **CAT** atteint son maximum avec la concentration **50mM** : $(4.3 \pm 0.187) \times 10^{-5}$ nmole/min/mg de protéines ; cette activité est plus élevée que celle du témoin qui est de l'ordre de $(1,2 \pm 0,045) \times 10^{-5}$ nmole/min/mg de protéines.

L'analyse statistique révèle une différence significative entre les traités par les concentrations (10 et 30mM) et les témoins ($P \leq 0,05$), et des différences très hautement significatives entre les témoins et les traités par les autres concentrations (20 ,40 et 50mM) ($P \leq 0,001$)

2.8. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur l'activité APX

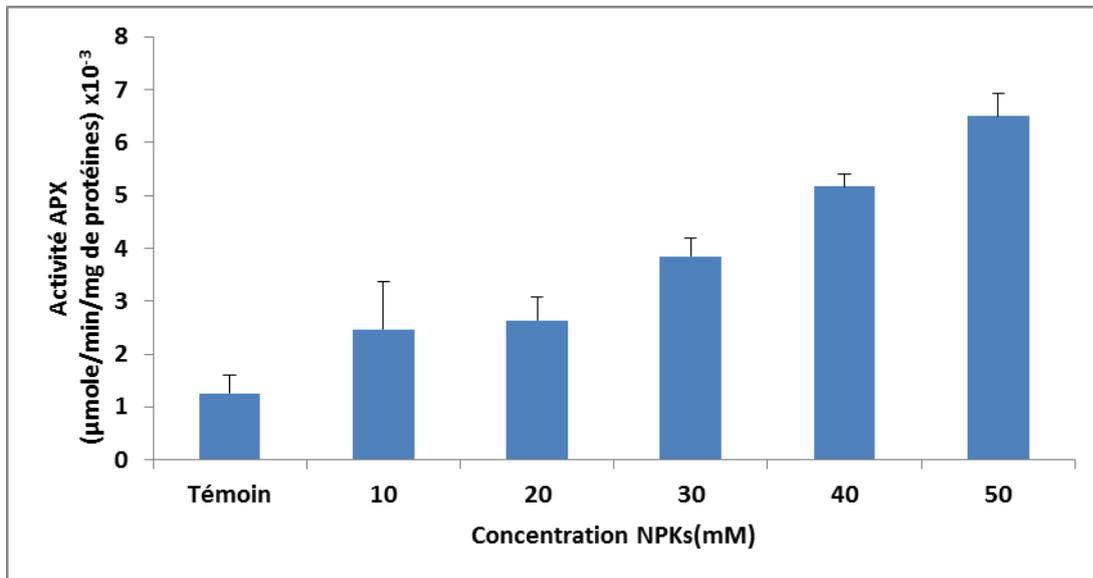


Figure 39. Variations de l'activité de l'ascorbat peroxydase de *Leucodon sciuroides* traité avec différentes concentrations de NPKs

La figure (39), montre que l'activité APX augmente de manière dose dépendante et ce par rapport aux témoins des mousses. Ces activités varient entre : $((2,47 \pm 0,9) \times 10^{-3}$ nmole/min/mg de protéines)[10mM] et $((6,5 \pm 0,43) \times 10^{-3}$ nmole/min/mg de protéines)[50mM], qui sont toutes supérieures à celle observée chez le témoin, qui est de l'ordre de : $((1,26 \pm 0,26) \times 10^{-3}$ nmole/min/mg de protéines).

L'analyse statistique révèle une différence hautement significative entre les traités par la concentration (20mM) et les témoins ($P \leq 0,01$), et des différences très hautement significatives entre les témoins et les traités par les concentrations (10 ,30,40 et 50mM) avec ($P \leq 0,001$).

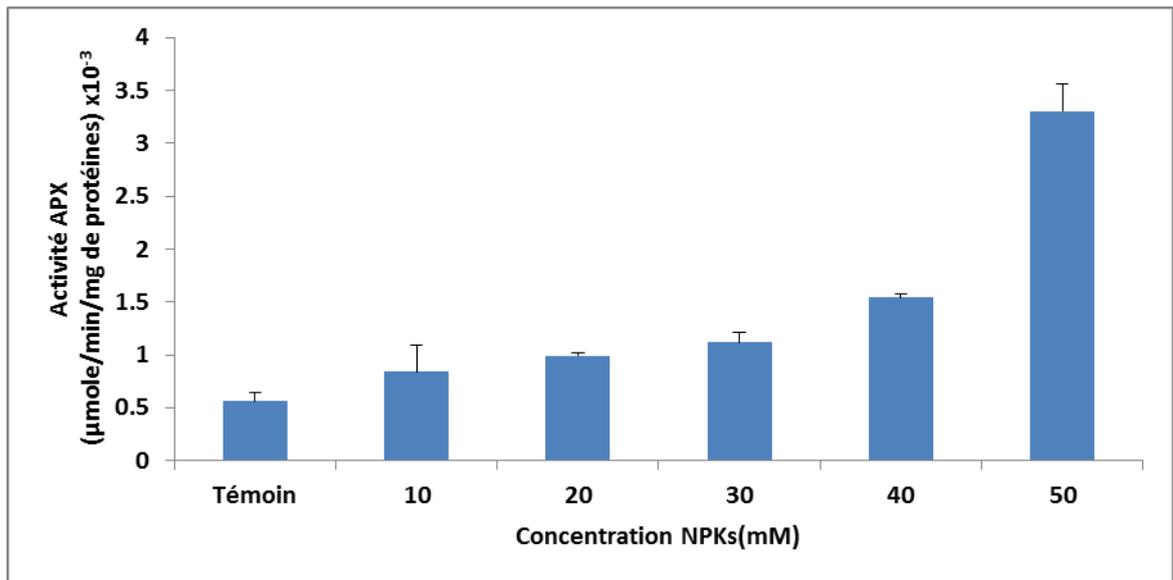


Figure 40. Variations de l'activité de l'ascorbat peroxydase de *Ramalina farinacea* traité avec différentes concentrations de NPKs

La figure (40) illustre les variations de l'activité APX chez les lichens traités avec des concentrations croissantes de NPKs. Nous remarquons une augmentation de l'activité Ascorbat peroxydase dose-dépendante.

Les mêmes remarques sont observées chez les lichens, avec des différences dans les activités de l'APX : chez les lichens les activités sont moins élevées par rapport aux mousses.

L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative entre les traités par les concentrations (10mM) et les témoins ($P \geq 0,05$). Alors que des différences très hautement significatives ont été révélées entre les témoins et les traités par les concentrations (20,30,40 et 50mM) ($P \leq 0,001$).

2.9.Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le taux de MDA

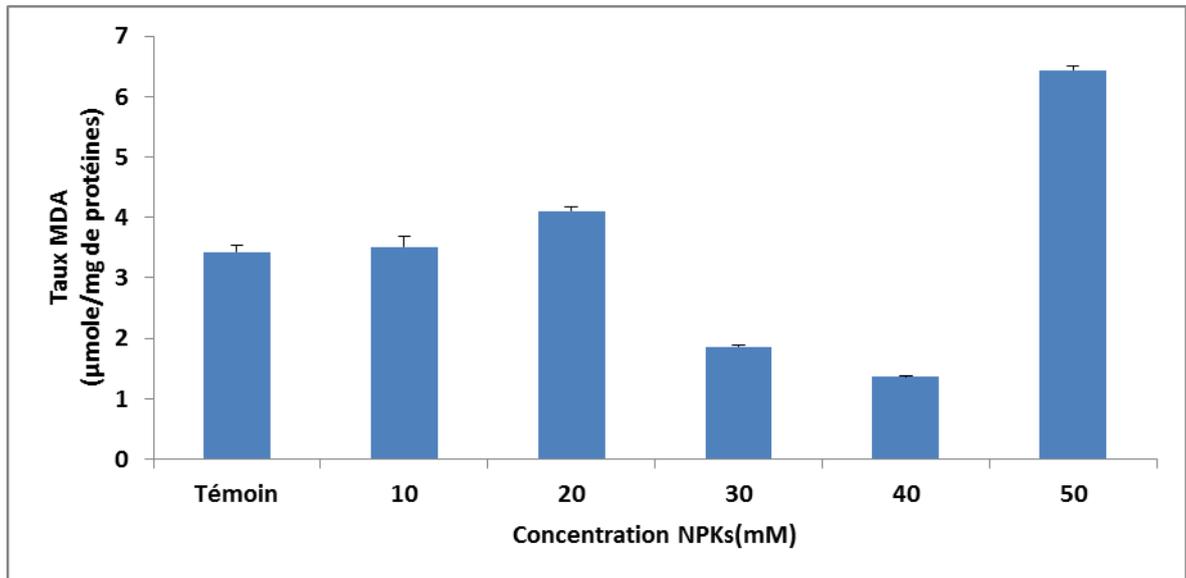


Figure 41. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux de malondialdéhyde chez *Leucodon sciuroides*

La figure (41), met en évidence les variations du taux de MDA. Chez les mousses, en présence de concentrations croissantes de NPKs, on constate que le taux de MDA est plus élevé chez les traités par rapport aux témoins particulièrement pour la concentration 50mM où ce taux est de **(6,44±0,075) µmole/mg de protéines**, alors que chez les témoins, il est de **(3,43±0,17) µmole/mg de protéines**.

L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative entre le taux du MDA chez les témoins et les traités par la concentration (10mM) après (7j) de traitement ($P \geq 0,05$). Cependant, des différences très hautement significatives ont été révélées entre les traités par les concentrations (20,30,40 et 50mM) et les témoins ($P \leq 0.001$).

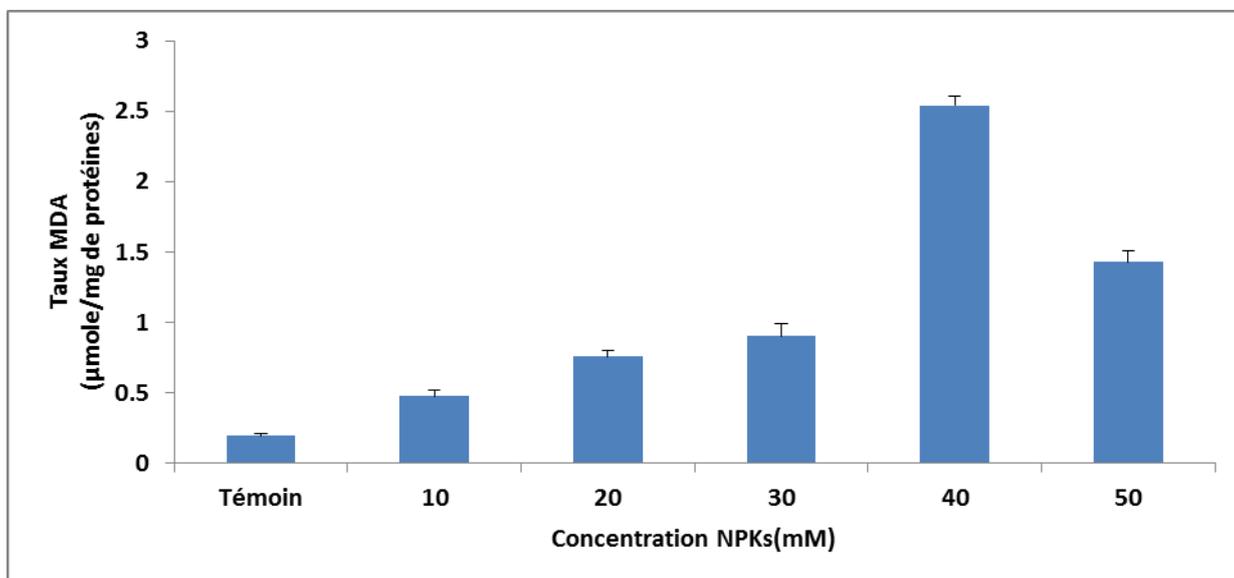


Figure 42. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur les variations du taux de malondialdéhyde chez *Ramalina farinacea*.

La figure (42) met en évidence les variations du taux de malondialdéhyde, produit de la dégradation oxydative des lipides et des acides gras insaturés. Nous remarquons que ce taux augmente de manière dose-dépendante jusqu'à la concentration **40 mM** de NPKs (**$2,54 \pm 0,065$ μmole/mg de protéines**). Avec la dose la plus élevée, on constate une chute jusqu'à (**$1,43 \pm 0,08$ μmole/mg de protéines**).

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les témoins et les traités par toutes les concentrations (10,20,30,40 et 50mM) après (7j) de traitement ($P \leq 0.001$).

2.10. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le métabolisme photosynthétique et respiratoire des mousses et des lichens

2.10.1. Effets des concentrations croissantes de NPKs sur le métabolisme photosynthétique des mousses et des lichens

D'après cette figure (43) qui illustre l'effet des différentes concentrations de NPKs sur le métabolisme photosynthétique des lichens de l'espèce *Ramalina farinacea*, et après un traitement de 7 jours, on observe une nette augmentation de la quantité d' O_2 produite dans le milieu dès la 2^{ème} minute d'enregistrement pour l'échantillon témoin et à partir de la 4^{ème} minute pour tous les échantillons traités.

L'échantillon traité avec la concentration 40mM, présente la quantité produite la plus élevée jusqu'au temps (10 min), soit : **11 nmole d' O_2 /100mg de PF** (augmentation $\approx 62\%$ par rapport au témoin). Tandis que le minimum de cette quantité a été enregistré au même temps (10min) pour l'échantillon témoin qui atteint : **4 nmole d' O_2 /100mg de PF**.

Concernant les échantillons traités avec les autres concentrations (10,20,30 et 50mM), présentent tous des quantités d'oxygène produites supérieures à celles du témoin d'où une stimulation de la photosynthèse.

L'analyse statistique a révélé des différences très hautement significatives entre la photosynthèse des échantillons témoins et traités aux différentes concentrations de NPKs avec ($p < 0.001$).

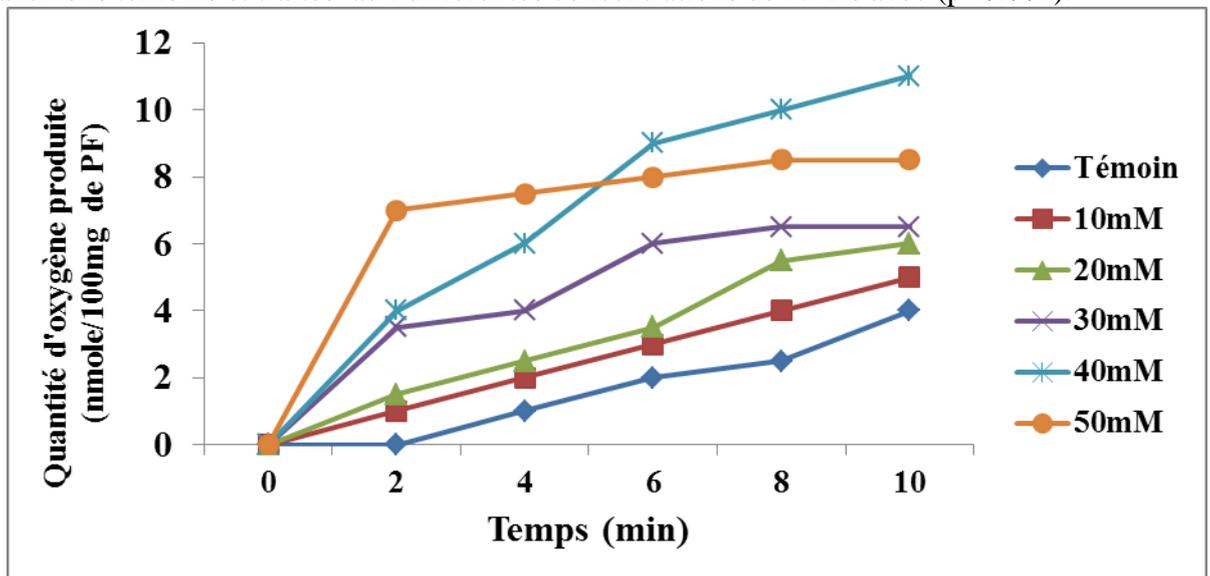


Figure 43. Effet de NPKs sur le métabolisme photosynthétique chez *Ramalina farinacea*

La figure suivante (44) illustre l'effet des différentes concentrations de NPKs sur le métabolisme photosynthétique des mousses où on remarque une libération d'O₂ dans le milieu pour les échantillons témoins ainsi que pour les échantillons traités avec les 5 concentrations choisies.

On observe une nette augmentation de la quantité d'O₂ produite dans le milieu dès la 4^{ème} minute d'enregistrement pour les échantillons témoins. Le minimum de cette quantité a été enregistré au temps (10min) pour l'échantillon témoin qui ne dépasse : **2.5 nmole d'O₂/100mg de PF**. Tandis que l'échantillon traité avec la concentration 50mM présente la quantité produite la plus élevée jusqu'au temps (10 min), soit : **6.5 nmole d'O₂/100mg de PF**.

Concernant les échantillons traités avec les autres concentrations (10,20,30 et 40 mM), présentent tous des quantités d'oxygène produites supérieures à celles du témoin d'où une stimulation de la photosynthèse.

L'analyse statistique a révélé des différences très hautement significatives entre la photosynthèse des échantillons témoins et traités avec ($p < 0.001$).

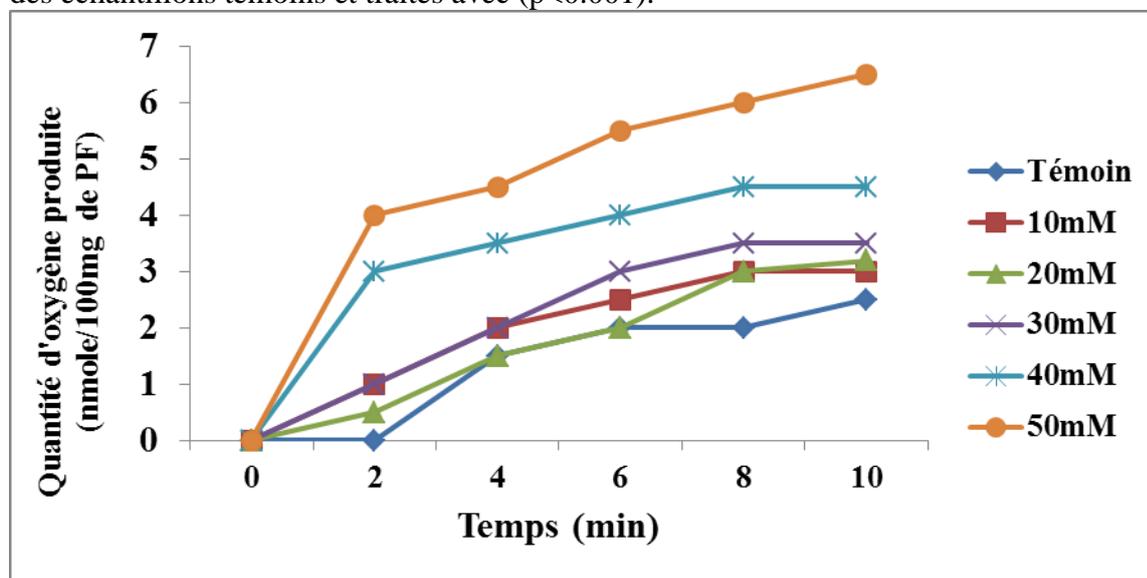


Figure 44. Effet de NPKs sur le métabolisme photosynthétique chez *Leucodon sciuroides*

2.10.2. Effets des différentes concentrations de NPKs sur le métabolisme respiratoire des mousses et des lichens

Cette figure (45), illustre l'effet de traitement de NPKs pendant 7 jours, sur le métabolisme respiratoire des lichens .

On constate que les lichens témoins présentent une respiration qui démarre à **130 nmole d'O₂** et atteint **80 nmole d'O₂** après 10min, la vitesse d'oxydation moyenne est : **5 nmole d'O₂/min**.

Ce traitement provoque une accélération observée à partir de la 2^{ème} minute surtout au niveau des échantillons traités avec les concentrations 10,20 et 30mM où les vitesses d'oxydation sont respectivement : **3-1.5 et 1 nmole d'O₂/min** d'où une inhibition de la respiration. En effet , cette vitesse est de l'ordre de **0 nmole d'O₂/min** chez les échantillons traités avec les deux plus fortes concentrations :40 et 50mM de NPKs d'où une inhibition totale de la respiration

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre la respiration des échantillons témoins et traités avec ($p < 0.001$).

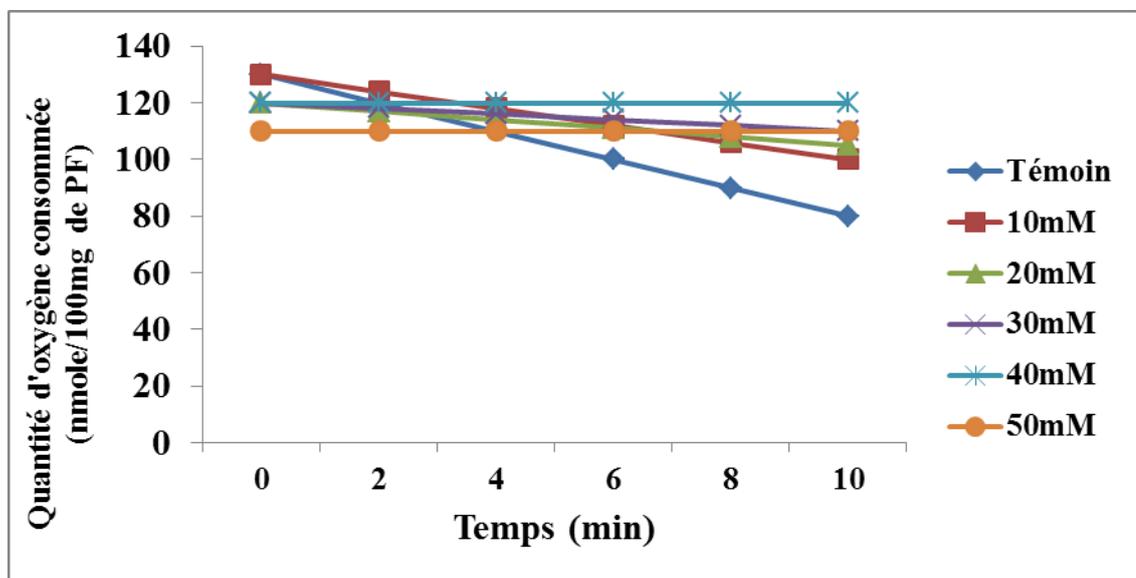


Figure 45. Effet de NPKs sur le métabolisme respiratoire chez *Ramalina farinacea*

D'après cette figure (46) qui illustre l'effet de différentes concentrations de NPKs sur le métabolisme respiratoire des mousses, on constate que toutes les courbes commencent à partir de différents points . Chez les lichens témoins, la courbe commence à environ **120 nmole d'O₂/min** pour atteindre **100 nmole d'O₂/min** après 10mn de respiration , avec une vitesse d'oxydation moyenne de : **2 nmole d'O₂/min** .

Le traitement des échantillons avec les différentes concentrations de NPKs, provoquent une diminution de la vitesse d'oxydation soit : **1 nmole d'O₂/min** pour l'échantillon traité avec la plus faible concentration (10mM) et un minimum de cette vitesse de **0.5 nmole d'O₂/min** a été enregistré chez l'échantillon de 40mM. Pour les autres échantillons (20 et 30mM), les vitesses d'oxydation obtenus sont respectivement : **0.9 et 0.8 nmole d'O₂/min** et sont toutes inférieures à celles des mousses témoins d'où une inhibition du métabolisme respiratoire. Ce dernier est complètement inhibé chez les traités avec la plus forte concentration (50mM), ce qui correspond à une vitesse d'oxydation moyenne de : **0 nmole d'O₂/min**.

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre la respiration des échantillons témoins et traités avec ($p < 0.001$).

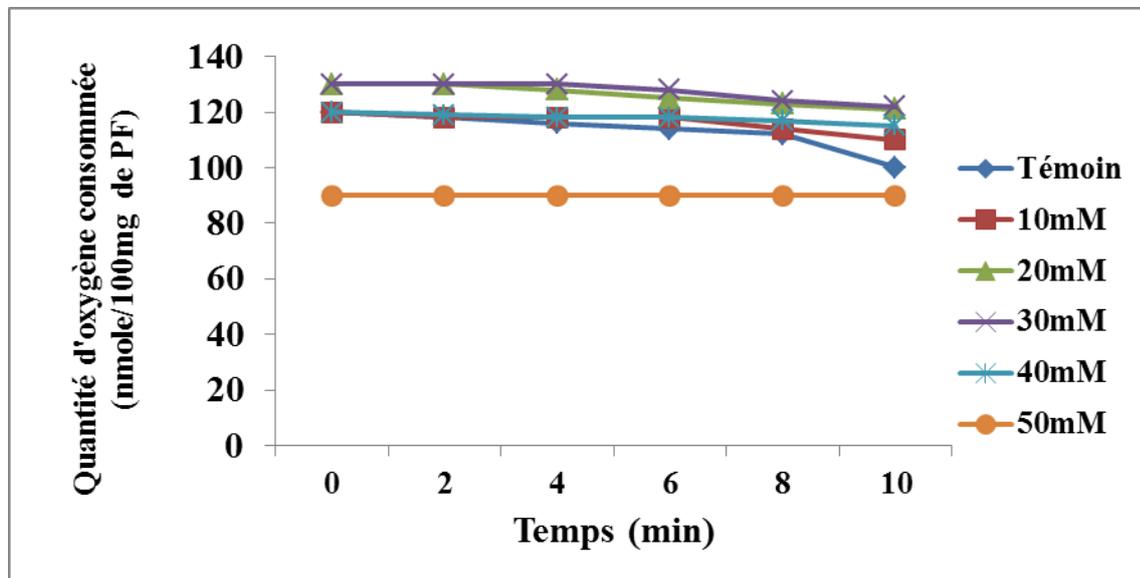


Figure 46. Effet de NPKs sur le métabolisme respiratoire chez *Leucodon sciuroides*

DISCUSSION

Les stress environnementaux ou abiotiques, comme la pollution, la sécheresse, la salinité et les basses températures sont des conditions qui affectent la croissance et le rendement des plantes. Contrairement aux animaux, qui peuvent se déplacer lorsque les conditions de vie ne leur sont plus favorables, les plantes ont développé des stratégies d'adaptation pour répondre aux changements environnementaux en contrôlant et en ajustant leurs systèmes métaboliques (**Laurent et Ahmed, 1991**).

Les réponses cellulaires et moléculaires des plantes aux conditions de stress ont été très étudiées. Les mécanismes par lesquels elles perçoivent les signaux environnementaux et les transmettent à la machinerie cellulaire pour activer des mécanismes de réponses adaptées déterminent chaque jour leur survie. La connaissance de ces réponses, basés sur la transmission (transduction) de signaux de stress, est très importante afin d'améliorer la réponse des plantes cultivées aux différents stress environnementaux.

Ainsi, une voie de transduction d'un signal commence par la perception de ce signal au niveau de la membrane, suivie par la production de seconds messagers et de facteurs de transcription. Ces facteurs contrôlent l'expression de gènes impliqués dans la réponse au stress incluant des changements morphologiques, biochimiques et physiologiques (**Chambers et al., 2001**).

L'implication de l'acide abscissique (hormone végétale) et du calcium (second messager) dans les stress environnementaux chez les plantes est reconnue depuis longtemps.

Mécanisme général de réponse des plantes à un stress (**Laurent et Ahmed, 1991**) :

Stress abiotique → *signal* → *perception du signal* → *seconds messagers*
Voies de signalisation → *expression des gènes* → *réponses physiologiques*

On peut considérer la notion de stress, d'une part, d'une déviation plus ou moins brusque par rapport aux conditions normales (moyennes) de la plante ou de l'animal: et d'autre part une réaction sensible de l'individu dans les différents aspects de sa physiologie la quelle change sensiblement, avec soit adaptations à la nouvelle situation, soit à la limite, dégradation menant une issue fatale. Nous avons donc, deux aspects dans la notion de stress: **la contrainte extérieure**, et son résultat sur l'individu, et la réponse de stress ou **l'état de stress**. Il faut donc clairement distinguer le facteur de stress ou contrainte, et l'état de stress (la réponse), qui, dans le temps, suit plus ou moins rapidement et est suivi plus ou moins bien par une adaptation (**Leclerc, 1999**). Ce qui confirme nos résultats par la suite.

Selon la définition proposée par **Garrec et Van Haluwyn (2002)**, la biosurveillance végétale de la qualité de l'air est l'utilisation des réponses à tous les niveaux d'organisation biologique d'un ou plusieurs organismes vivants, pour prévoir et/ou révéler une altération de l'environnement. En fonction des niveaux de réaction des organismes, trois concepts de biosurveillance ont été distingués :

- La biointégration : modifications de la présence et de l'abondance des espèces ;
- La bioindication : altérations macroscopiques individuelles morphologiques ou tissulaire ;
- Et la recherche de biomarqueurs : réactions précoces infra individuelles invisibles, comme les altérations cellulaires et moléculaires.

En parallèle, vient s'ajouter la bioaccumulation, c'est-à-dire la capacité de certains organismes à accumuler les polluants présents dans l'air. Un grand nombre de travaux de biosurveillance végétale se basent sur ce quatrième concept, c'est pourquoi nous nous focaliserons sur les études de bioaccumulation dans ce chapitre (**Rzepka et Cuny, 2008**).

Dans les études actuelles de bioaccumulation des polluants chimiques atmosphériques, trois grands types d'organismes sont utilisés : les lichens, les mousses et les végétaux supérieurs. On distingue deux approches : passive et active. La première consiste à récolter les individus naturellement présents sur la zone d'étude, la seconde à exposer sur des sites choisis des individus préalablement cultivés dans des conditions standardisées ou récoltés ou des milieux non contaminés (**Brunialti et Frati, 2007**).

L'agence internationale de l'énergie atomique inclut l'utilisation de « biomoniteurs » (mousses, lichens, végétaux) dans ses programmes d'action en santé-environnement. Un autre travail, a permis de démontrer qu'il était possible de traduire des concentrations en éléments traces métalliques observées chez des mousses en effets tangibles sur la santé humaine (**Wappelhorst et al., 2000**).

L'utilisation de bioindicateurs végétaux (Lichens, Bryophytes et Sphaignes...etc) dans le suivi de la pollution par les métaux lourds a déjà fait l'objet de plusieurs travaux (**Martino, 1991 ; Garrec et Van Haluwyn, 2002 ; Wu et al., 2008 ; Sharma, 2009**).

Cependant, peu d'études traitent de l'impact de types particuliers de polluants (engrais, pesticides...etc) sur ces organismes (**Deruelle, 1983 ; Khaldi, 2003 ; Bensoltane et al., 2005 ; Riddell et al., 2008 ; Dzubaj et al., 2008 ; Cape et al., 2009**).

En fonction des problèmes environnementaux posés, il est possible de combiner différents types de matrices végétales dans un but de surveillance intégrée. Ainsi une étude financée par la région Rhoe-Alpes concernant l'impact de trafic routier dans les vallées alpines a conduit prélever et analyser diverses matrices végétales : écorces, mousses, lichens et pollens (**Asta, 2002**).

Différentes approches sont aussi possibles pour évaluer l'exposition et/ou les effets biologiques des polluants émis par une source de pollution. On peut distinguer :

- ✓ Des études in situ, soit directes sur des organismes végétaux ou animaux collectés sur le site (bio-indication passive), soit indirectes, sur des animaux ou des végétaux transféré sur le site (bio-indication active).
- ✓ Des modèles expérimentaux ou bio-essais, dans lesquels les espèces vivantes sont exposées au laboratoire à des échantillons prélevés sur un site (sol pollué). Les expérimentations permettent éventuellement d'établir des modèles mathématiques reliant par exemple les concentrations d'un polluant avec un effet toxique.
- ✓ Des indicateurs biologiques (bio-intégrateurs) obtenus par l'étude des communautés vivant en périphérie du site (**Belandria et al., 1991**).

La bioaccumulation de certains polluants peut être suivie dans plusieurs types d'espèces végétales ou animales. Parmi les végétaux les plus utilisés, en milieu aquatique, citons les mousses telles *Fontinalis* (**Dazy et al., 2009**) et les macrophytes aquatiques (**Cao et al., 2004**).

En milieu terrestre, la contamination des sols est détectée à l'aide des plantes sauvages ou cultivés telles que légumes ou céréales. Les polluants analysés sont surtout des métaux lourds (**Dazy et al., 2008**) ou des dérivés halogénés polycycliques. La pollution atmosphérique peut être détectée grâce à différents végétaux supérieurs, mousses, écorces et surtout lichens (**Gombert et Asta, 1997**).

L'exposition des mousses à différents polluants atmosphériques engendrent des décolorations et une réduction de la croissance. Mais ces effets sont assez ténus, les mousses sont généralement peu utilisées comme bio-indicateurs par comparaison avec les végétaux supérieurs (**Bargali,1998a**).

Des études ont été conduites sur la composition floristique des communautés de mousses en fonction de la distance à une source polluante (bryophytes bio-intégrateurs). On a établie des listes de bryophytes de sensibilité différentielle et on retrouve une certaine analogie avec les méthodes établies à l'aide des lichens : échelle de sensibilité au SO₂, calcul d'un indice de qualité de l'air à partir de divers paramètres relatifs à la flore muscinale corticole (**Bardat et Boudier ,2002**).

Des mousses récoltées in situ (bio-accumulateurs) sont utilisées pour l'estimation de polluants atmosphériques. Cette méthode, mise au point dans les pays nordiques est maintenant utilisée dans l'ensemble de l'Europe pour cartographier la pollution métallique de fond. En France, l'université Paris VI a mis au point un programme basé sur l'analyse de 37éléments-traces métalliques réalisée dans les mousses du territoire français. Les résultats obtenus ont déjà été publiés (**Galsomiers et al.,1999**).

Les bryophytes sont des organismes particulièrement bien adaptés pour l'étude des polluants atmosphériques métalliques et organiques. Elles doivent cette efficacité à leurs particularités anatomiques (rapport élevé surface/volume ou surface/masse, absence de cuticule cireuse, de vaisseaux conducteurs et du vrai système racinaire, facilité de repérer les croissances annuelles) et leurs caractéristiques physiologiques (activité photosynthétique continue tout au long de l'année). Elles seront de ce fait soumises aux retombées des polluants présents à la fois dans les dépôts secs et dans les dépôts humides. Contrairement aux lichens, elles seront beaucoup moins utilisées comme bio-indicateurs ou bio-intégrateurs de la pollution atmosphérique gazeuse bien que de nombreuses études démontrent leur grande sensibilité à ces différents polluants (SO₂,NO_x,O₃,F....) (**Bargali,1998a**).

Le concept de biomarqueur existe chez les bryophytes mais c'est la notion elle-même qui est encore très peu utilisée. On retrouve ce qu'on a déjà évoqué pour les végétaux supérieurs, à savoir que les paramètres utilisables comme bio-marqueurs sont innombrables. Il s'agit de modification enzymatique (liées notamment au stress oxydant : catalase, superoxyde dismutases, peroxydases, glutathionréduit/glutathion oxydé...) et de la perte de l'intégrité membranaire (**Denayer,2000**).

En fonction du sens très restrictif de bio-indicateur, les bryophytes ont été peu utilisées en techniques de routine comparativement aux végétaux supérieurs. Mais il faut savoir que l'exposition des mousses à différents polluants gazeux (SO₂,O₃) provoque des perturbations de croissance chez les espèces sensibles.

L'agence internationale de l'énergie atomique encourage l'utilisation des mousses en tant que matrices pour l'analyse des éléments-traces métalliques (**Smodis et Parr, 1999**).

Nous nous proposons dans ce chapitre de procéder à la mise en évidence de l'effet de NPKs sur les mousses et les lichens. Ce chapitre comportera deux parties : la première concernera les effets de cet engrais sur les paramètres biochimiques et physiologiques, et sur l'activité des enzymes de détoxification de ces bioindicateurs après un traitement de 3 jours ; tandis que la seconde portera sur les mêmes paramètres mais après un traitement de 7 jours.

Dans la première partie d'expérimentation, nous avons procédé au dosage de la proline chez les échantillons de deux types des végétaux inférieurs : les mousses et les lichens, afin de détecter le phénomène de stress sous l'effet de plusieurs concentrations de NPKs (10,20,30,40 et 50mM). Les mousses comme les lichens, connaissent une perturbation métabolique causée par le traitement au NPKs (Traitement 3 et 7jours).

Le dosage de la proline chez ces végétaux représente un moyen efficace pour détecter un éventuel phénomène de stress. La proline est un acide aminé connu pour son accumulation dans une grande variété d'organismes depuis la levure jusqu'aux plantes supérieurs, exposés à un stress abiotique (**Pardha Saradhi et al.,1993**), tel que le stress induit par les métaux lourds (**Alia et al.,1991 ; Tripathi et al., 2006**) et par les engrais (**Déruelle,1983**).

Nos résultats sont en parfait accord avec les travaux ayant porté sur le comportement des mousses et des lichens vis-à-vis d'une pollution par les métaux lourds (**Sémadi,1989**) et par les engrais (**Khaldi,2003 ; Bensoltane et al.,2005**). Ces travaux ont montré une augmentation du taux de proline en fonction des concentrations du polluant.

Le rôle de la proline a été démontré dans :

- L'ajustement osmotique ;
- Le rapport NADPH/NADP(P+) ;
- Dans le pH cytosolique, en plus de son implication dans les réactions de détoxification contre les radicaux libres oxygénés (en particulier l'oxygène singulier et les radicaux OH) (**Pardha Saradhi et al.,1993**) ;
- Certains auteurs ont démontré l'étroite corrélation entre la peroxydation des lipides et l'accumulation de la proline (**Alia et al.,1991 ; Prasad et al.,1999**).

L'équilibre osmotique dans le compartiment hyaloplasmique est assuré par l'accumulation d'oses, d'acides aminés (surtout de proline). Ces diverses substances organiques sont compatibles avec une bonne activité des systèmes enzymatiques. Ces substances permettent de maintenir l'équilibre du potentiel hydrique des cytoplasmes avec celui de la vacuole et de l'apoplaste ; elles permettent aussi les activités enzymatiques nécessaires aux cellules (**Lüttge, 1993**).

La proline est donc considéré comme un biomarqueur métabolique de stress chez les végétaux ,la relation entre le stress hydrique et l'accumulation de cet acide aminé est établie depuis longtemps. L'accumulation de proline est l'une des manifestations les plus remarquables du stress salin (**Monneveux et Nemmar, 1986 ; Thomas et Bohnert, 1993**).

Les lichens (*Ramalina farinacea*) et les mousses (*Leucodon sciuroides*) présentent un métabolisme perturbé par le traitement NPKs, ceci étant en évidence par l'accumulation de la proline. Parmi les facteurs influant l'accumulation de la proline : l'inhibition de l'oxydation due à un dysfonctionnement mitochondrial (**Carceller, 1995**).Ce qui explique par la suite nos résultats concernant le comportement respiratoire de ces végétaux vis-à-vis d'une contamination par le NPKs.

Pour évaluer l'effet du NPKs sur les taux des protéines totaux chez les deux modèles biologiques choisis, nous avons utilisé la méthode de dosage de **Bradford (1976)**.

Les résultats obtenus nous ont permis de constater que le traitement par le NPKs aux différentes concentrations (**10,20,30,40 et 50mM**), perturbe les taux des protéines totaux, aussi bien chez les lichens que chez les mousses (Traitement 3 et 7jours). Cette perturbation du taux de protéines est un signe d'une éventuelle atteinte d'autres métabolismes de base chez les modèles biologiques choisis et reflète une toxicité du NPKs.

Le dosage des protéines solubles montre que l'addition du NPKs dans le milieu de culture induit une élévation très importante des quantités de celles-ci . Ceci est dû à l'amélioration de l'absorption de l'azote et l'augmentation consécutive du contenu en protéines des mousses et des lichens (**Chaillou et al., 1986, 1991 ; Chaillou et Lamaze, 1997**). Cette augmentation est accompagnée par une meilleure expression des enzymes antioxydantes (CAT et APX), qui ne sont pas détectables en l'absence de NPKs.

Nos résultats montrent une augmentation de la quantité des protéines qui s'explique par le fait que la présence de xénobiotique à l'intérieur des tissus végétales stimule la synthèse protéique de nombreuses enzymes entre autre celles intervenant dans la détoxification ,ceci est en parfait accord avec les résultats de **Shradha Singh et al., (2004)**, qui montre que l'accumulation des protéines est proportionnelle à celle du métal. D'autres travaux (**Wollgieh et Newmann,1995**) reportent l'induction des protéines spécifiques au choc thermique sous l'effet d'un stress métallique qui montre leur rôle dans la réponse adaptative.

Stalt et al. ;(2003),indiquent que l'exposition des plantes à différentes concentrations de polluant (cadmium) a tendance à provoquer une augmentation de la synthèse des protéines particulièrement des phytochélatines dont le rôle est la détoxification. Ces mêmes auteurs rapportent que près de 80% du xénobiotique est détoxifié par ce type de protéines.

Nos résultats concordent aussi avec les travaux de **Sanchez et al. ;(2004)** ,qui constatent une augmentation significative du taux d'acides aminés et de protéines chez l'haricot vert (*Phaseolus vulgaris* L.cv.strike) traité avec 24mM de NH₄NO₃.Ainsi ,nos travaux précédents (**Khaldi,2003**) où on a constaté une augmentation du taux de proline et de protéines totales chez des mousses (*Leucodon sciuroides*) et chez des lichens (*Ramalina farinacea*) traités avec différentes concentrations d'un engrais NH₄NO₃.

Ainsi, lorsqu'une plante subit un stress, il y a une perte importante d'eau au niveau des cellules provoquant une tension entre la membrane plasmique et la paroi végétale, un dysfonctionnement de la photosynthèse, et donc une baisse de rendement. Pour y remédier, la plante synthétise, entre autre :

- Des osmoprotectants, comme la proline ou la glycine, qui permettent de maintenir l'équilibre en eau entre la cellule végétale et l'environnement extérieur,
- Des protéines spécifiques,
- Des acides gras afin de modifier la perméabilité de la membrane plasmique (**Leblond,2004**).

Nos résultats sont en accord aussi avec les travaux de **Cao et al., (2004)** qui ont traité un macrophyte *Potamogeton crispus* avec différentes concentrations d'ammonium.

Chez les plantes, les sucres sont synthétisés de façon endogène au niveau des cellules foliaires photosynthétiques *via* la fixation et la réduction du CO₂ atmosphérique. Ces sucres sont soit stoppés ou utilisés sur place, soit exportés vers les cellules des organes non photosynthétiques, puis stockés ou utilisés dans ces organes. Les fluctuations des niveaux de sucres sont complexes chez ces organismes photosynthétiques pluricellulaires, avec des possibilités de coopération cellulaire pouvant modifier l'intérêt adaptatif de la perception des sucres solubles. Cette complexité impose une régulation fine et coordonnée des activités de synthèse, de transport, d'utilisation et de stockage des sucres (**Ramel ,2009**). De plus, chez les organismes eucaryotes pluricellulaires, les mécanismes de signalisation doivent pouvoir être intégrés avec des processus de transmission d'information à distance. La capacité des plantes à répondre aux variations des niveaux de sucres solubles peut servir de mécanisme de contrôle intégrant les conditions environnementales externes comme la lumière, les nutriments et les stress abiotiques et biotiques avec le programme de développement intrinsèque (**Xiao et al., 2000**).

Selon (**Deraissac , 1992**), le processus de concentrations des sucres solubles et /ou de la proline dans les tissus foliaires des végétaux stressés est reconnu comme une caractéristique d'adaptation. Ce qui confirme nos résultats où on a constaté une augmentation des taux des sucres solubles pendant les deux traitements (3 et 7 jours) et chez les deux espèces.

Les sucres solubles agissent non seulement en tant que métabolites, mais aussi en tant que signaux capables d'activer des voies de signalisation aboutissant à des modifications d'expression génétique. Leur implication dans les réponses aux stress xénobiotique et oxydatif a été étudiée chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* en interaction avec des molécules polluantes, en particulier l'atrazine, herbicide de la famille des triazines, qui a été prise comme polluant modèle générant un fort stress oxydatif (**Ramel ,2009**).

L'autre aspect de notre travail, a consisté à mesurer les teneurs moyennes en chlorophylles (a, b et a+b), paramètres susceptibles de nous indiquer un éventuel état de stress dû à la présence d'un polluant chez les deux espèces végétales (mousses et lichens).D'une manière générale, la chlorophylle semble être affectée par le xénobiotique (NPKs) et durant les deux traitements (3 et 7 jours). Cette perturbation dans les teneurs moyennes en chlorophylles a,b et a+b, chez ces végétaux, explique l'atténuation de l'activité photosynthétique.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Puritch et Barker,(1967)**, qui mettent en évidence un effet perturbateur de l'ammonium sur la biosynthèse des chlorophylles, de même qu'une perturbation de l'aspect morphologique externe et interne des chloroplastes des feuilles.

D'autres auteurs (**Gallego et al.,1996 ; Shradha Singh et al., 2004**) rapportent une dégradation fréquente de la quantité de chlorophylle et caroténoïdes chez les plantes exposés à différentes concentrations des métaux lourds.

L'autre aspect de notre travail, a consisté de mesurer des biomarqueurs enzymatiques (**GST,CAT et APX**) et non enzymatique (**GSH et MDA**) susceptibles de nous indiquer l'état de stress dû à la présence d'un xénobiotique (polluant).

L'induction des enzymes antioxydants des végétaux sous des conditions de stress est souvent rapportée (**Smirnoff, 1998 ; Nimptsch et Pflugmacher, 2007**).

Si le concept de biomarqueur chez les lichens existe depuis les années 1970, la notion elle-même est encore très peu utilisée. Comme pour les végétaux supérieurs, les modifications des paramètres utilisables chez les lichens comme biomarqueurs sont innombrables .Il s'agit de modifications ultra-structurales, de perturbations de la respiration (ATP) et de la biosynthèse (fluorescence et dégradation de la chlorophylle, mesure de l'activité photosynthétique), perturbations des systèmes enzymatiques (liées notamment au stress oxydant : catalase, superoxyde dismutase, peroxydases, glutathion réduit /glutathion oxydé), évaluation de la perte de l'intégrité membranaire (**Cuny et al.,2002**).

Dans notre travail ; nous avons mis en évidence une diminution de manière dose -dépendante du GSH en présence de NPKs (traitement 3jours) chez les deux espèces. Cette déplétion peut être expliquée par la liaison directe du glutathion aux atomes du xénobiotique car le glutathion dispose d'un groupement acide carboxylique, d'un groupement amine, d'un groupement sulfhydrile (-SH) et de deux pontages peptidiques susceptibles d'être impliqués dans des réactions avec d'autres atomes. Son groupement fonctionnel -SH jouerait alors un rôle important dans la liaison au xénobiotique (**Anderson,1985**).

Cependant, une augmentation dans les taux de GSH au cours du deuxième traitement (7jours), est observé chez les deux espèces (mousses et lichens) suivie d'une légère diminution avec la plus forte concentration (50mM).Cette augmentation peut se traduire par un phénomène de résistance aux concentrations (10 ,20,30 et 40mM) de NPKs.

Le dosage des taux de GSH chez les mousses et les lichens traités par le NPKs suggère la participation active de cet élément dans la détoxification des espèces réactives à oxygène (EAO) généré par ce xénobiotique. Ce résultat est confirmé aux observations rapportés par **Asada et Takahashi,(1987)**.

Une diminution du contenu de glutathion est principalement reliée à une diminution de l'activité de la glutamyl cystéine synthétase, cette dernière intervient dans la biosynthèse de GSH.

Nos résultats sont aussi en accord avec ceux de **Zhu et al.,1999 ; Cao et al.,2004 et Freeman et al.,2004** chez les quelles le niveau de GSH est diminué avec l'augmentation de la tolérance à l'accumulation du polluant pour des faibles concentrations et aussi avec celles observés par **Gallego et al.,(1996) ;Nagalakshmi et Prasad,(2001) ; Durcuix et al.,(2006)** où le niveau de GSH diminue en réponse au stress induit par les fortes concentrations du polluant.

De plus, de faibles concentrations de xénobiotique non cytotoxiques augmentent la concentration en GSH selon le type cellulaire. De façon générale, l'augmentation de GSH permet à la cellule de mettre en place des mécanismes de défense alors qu'aux fortes concentrations du toxique, les systèmes antioxydants sont submergés et la synthèse diminue (ce qui a été constaté au cours du traitement 7 jours). D'un autre coté la réduction du taux de GSH peut être expliquée également par l'augmentation d'utilisation de ce dernier par la GST dans la réaction de conjugaison, ceci est confirmé par nos résultats qui indiquent une induction de la GST en présence du xénobiotique (NPKs).Le GST piège les espèces réactives de l'oxygène car il réagit notamment avec le radical hydroxyle (OH) et O_2^- (**Saez et al., 1990**).

Le GSH est aussi un substrat des glutathions peroxydases sélénio - dépendantes (GPx). Cette enzyme antioxydante utilise le GSH comme source principale d'hydrogène (**Saez et al., 1990**). Ces résultats sont en accord avec les travaux de (**Winston et Di Giulio, 1991**) .

Ces enzymes catalysent aussi l'addition nucléophile du groupement thiol du glutathion réduit (GSH) aux composés électrophiles, y compris les métabolites intercellulaires aux polluants .C'est une enzyme qui catalyse dans le cytosol la réaction de conjugaison des xénobiotiques électrophiles et de leurs métabolites avec un ligand endogène qui est le glutathion (**Lagadic et al., 1997**).

Nos résultats montrent une augmentation significative du taux de GST ,aussi bien chez les mousses que chez les lichens (traitement 3 et 7jours) en présence de NPKs ; cette augmentation est une réponse au stress oxydatif provoqué par la présence de xénobiotique dans la cellule végétale. Les enzymes de biotransformation sont parmi les premières à répondre à la présence d'un xénobiotique dans un organisme vivant (**Peršić, 2004**) Cette augmentation indique un taux élevé de conjugaison des atomes de NPKs avec le glutathion.

La GST est induite par de nombreux composés dont certains sont également responsables de l'induction des cytochromes P450.La présence de monooxygénases à cytochrome P450 capables de métaboliser certains contaminants organiques (**Lagadic et al., 1997**).

Notre hypothèse est que l'induction du système enzymatique GST peut être expliquée par l'entrée de Xénobiotique (NPKs) dans les cellules végétales (mousses et lichens) et le déclenchement du système de détoxification.

La bioaccumulation de certains polluants dans les espèces végétales est un indicateur d'exposition. Des indicateurs d'effets de ces polluants peuvent également être mesurés, ils peuvent être plus définis, notamment sous la forme de divers paramètres biochimiques ou physiologiques (biomarqueurs).

Sur les végétaux, les indicateurs d'effets ont porté sur les réponses physiologiques aux pollutions : germination, croissance et photosynthèse. Ils sont le plus souvent basés sur des systèmes enzymatiques permettant de dégrader les xénobiotiques (polluants, médicaments, pesticides et engrais) ; le plus important étant le système oxydatif des cytochromes P450 (**Rico ,2001**).

Sachant que les mécanismes de détoxification et /ou de métabolisation des xénobiotiques mettent en jeu des systèmes enzymatiques utilisant des molécules d'oxygène pour leur activité (les mono-oxygénases et les oxydases) (**Fournier ,1993**) et (**Pelmont,1995**). Il est donc clair que la mesure du taux d'oxygène présent dans le milieu de culture est un excellent indicateur d'une toxicité via la perturbation de la respiration.

Le système antioxydant des plantes supérieures est constitué d'enzymes, de composés à faibles poids moléculaires (parmi eux des peptides, des vitamines, des flavonoïdes, des acides phénoliques, des alcaloïdes, etc.), ainsi que des chaînes intégrées de détoxification. La défense enzymatique chez les plantes inclut des enzymes capables d'enlever, de neutraliser et d'éliminer les oxydants intermédiaires. La catalase (CAT) et l'ascorbate peroxydase (APx) sont les enzymes antioxydantes les plus efficaces. Les radicaux libres causent des dommages aux cellules par un mécanisme de peroxydation des lipides, ce qui conduit à un blocage des systèmes antioxydants naturels. L'application d'antioxydants synthétiques peut aider à contrer le stress oxydatif. Il existe très peu de publications à propos des effets des antioxydants sur la croissance et la physiologie des végétaux (**Klara et al.,1999**).

Des teneurs élevées en espèces d'oxygène actif ou en radicaux libres peuvent créer un stress oxydatif. La concentration de radicaux libres dans les cellules vivantes augmente suite à une exposition à des stress environnementaux, et conduit au vieillissement, à la carcinogénèse et aux immunodéficiences chez les animaux, et à la fuite membranaire, la sénescence, la destruction de la chlorophylle et à la diminution de la photosynthèse chez les végétaux (**Klara et al.,1999**).

La majorité des végétaux traités avec différentes concentrations des métaux lourds (Cu,Cd,Pb,Zn...etc) montrent une augmentation des activités enzymatiques : superoxyde dismutase (**SOD**), catalase (**CAT**), glutathione reductase (**GRD**), ascorbate (**APX**) (**Caviglia et Modensi ,1999; Arrigoni,1994**)et guaiacol peroxidase (**GPX**) par rapport au témoin (**Panda, 2003**). Ces travaux confirment nos résultats qui expriment le rôle des défences antioxydants dans les mécanismes plante-résistance contre un stress d'un engrais. Si quelques métaux lourds (Cu et Zn) sont essentielles autant que micro-nutriments des végétaux,les autres exercent des effets d'altération dans les processus de la photosynthèse et de la respiration ou l'inhibition de la croissance et stimulation de la formation de **ROS** (Reactive Oxygen Species).

Les cellules végétales sont capables de protéger leur vie par l'utilisation des mécanismes enzymatiques et non enzymatiques : **SOD, CAT, Peroxydases (APX et GPX)** et glutathion (**Apel et Hirt, 2004**).

L'hypothèse de **Modensi (1993)**, explique la relation entre le stress oxydatif et l'activité de l'ascorbat peroxydase chez les végétaux (lichens), par l'augmentation de cette activité comme premier moyen de défense (**Keller & Schwager, 1977 ; Loewus, 1998**).

Les peroxydases sont des hémoprotéines avec un groupement prosthétique héminique : la ferro proto porphyrine IX,3 (**Bergmeyer, 1974 ; Farago, 1994**). Ce sont des oxydo-réductases glycoprotéiques qui catalysent l'oxydation des nombreux composés organiques et inorganiques par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

L'activité APX, enzyme très important dans le système de défense, induit une réponse aux différentes concentrations de NPKs chez les mousses et les lichens et pendant les deux traitements (3 et 7 jours). L'APX protège la cellule contre les dommages oxydatives par l'élimination d' H_2O_2 toxique, libéré au niveau des chloroplastes, cytosol, mitochondries et peroxysomes des cellules végétales (**Mittler et al., 2004**).

Le catalase qui est localisé essentiellement dans les peroxysomes et les mitochondries, participe aussi dans la dégradation de H_2O_2 généré par le xénobiotique (**Foyer et al., 1994**).

Dans notre travail, on constate que chez les lichens, l'activité de la catalase augmente aux faibles concentrations de NPKs (10, 20 et 30 Mm) pour chuter ensuite aux fortes concentrations (40 et 50 Mm). Les mêmes résultats ont été constatés, aussi bien chez les mousses que chez les lichens pour l'activité de l'APX (traitement 3 jours). Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'aux faibles concentrations de NPKs, il y a déclenchement des systèmes de détoxification qui pour la plus part sont formés d'enzymes dont principalement la catalase. Ceci permet ainsi à la plante de tolérer puis de s'adapter au xénobiotique se traduisant ainsi par une augmentation de ces enzymes (CAT). Aux fortes concentrations de NPKs, les systèmes en question sont dépassés et les enzymes sont complètement inhibées ceci est en parfait accord avec les travaux de (**Chaoui et al., 1997 ; Stroinski, 1999 ; Cho et Park, 2000 ; Sinha et al., 2005 ; Mishra et al., 2006a,b et Sbartai, 2008**).

Cependant, l'activité des deux enzymes (CAT et APX) augmente de façon dose-dépendante, chez les mousses (traitement 3 jours) et chez les deux espèces pendant le traitement de (7 jours), ce qui peut s'expliquer par le fait que les systèmes de détoxification restent sensibles jusqu'aux plus fortes concentrations de NPKs.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus avec **Dazy et al., (2009)** où ils ont exposé, pendant 2 et 7 jours, une mousse aquatique *Fontinalis antipyretica* à cinq différentes concentrations des métaux lourds (**Cu et Zn**). Ses résultats montrent des activités maximales de CAT et APX avec la plus forte concentration (**1000 μ M**).

L'augmentation de l'activité APX sous stress oxydatif engendré par l'engrais (NPKs), montre bien son rôle dans l'élimination de l'eau oxygénée (H_2O_2) formé suite à l'accumulation des atomes du NPKs dans les thalles des espèces végétales étudiées. L'APX réduit (H_2O_2) en eau (H_2O) en utilisant l'ascorbate comme donneur d'électrons qui résulte de la déshydroascorbate. Il est recyclé en ascorbat qui utilise la GSH comme donneur d'électrons et le glutathion oxydé (GSSG) est converti en GSH par NADPH qui dépend de l'enzyme glutathion réductase (GR) (**Asada et Takahashi, 1987**). Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par (**Kampfenkel et al., 1995 ; Weckx et Clijsters, 1996 ; Patra et Panda, 1998 ; Prasad et al., 1999 ; Rucinska et al., 1999 et Gallego et al., 2002**). La stimulation de cette enzyme traduit bien la mise en place, chez les cellules des végétaux traités, un état de stress.

Nos résultats confirment la sensibilité des lichens et des mousses aux polluants (atmosphériques), mais souligne aussi le fait qu'ils sont également très dépendants dans le cas présent de la nature du substrat en particulier (NPKs) (**Belandria et Asta, 1986**).

Pour confirmer l'état de stress généré chez les mousses et les lichens, nous avons dosé un autre biomarqueur non enzymatique, le malondialdéhyde (MDA) qui est une expression de la lipoperoxydation (**Pompella et al., 1987 ; Sunderman, 1987**). L'utilisation de ce composé comme biomarqueur de stress oxydatif en général, et en peroxydation lipidique en particulier, est largement répandu.

Le MDA est un produit des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés par des espèces réactives de l'oxygène générés dans des conditions de stress, en particulier avec contaminants organiques (HAP, PCB, pesticides) et inorganiques (métaux de

transition). Les hydroperoxydes ainsi formés se décomposent en intermédiaires radicalaires et en aldéhydes dont un des représentants les plus réactifs est le malonedialdéhyde (MDA) (**Alia et al., 1995**).

Le MDA est un agent alkylant puissant capable de réagir avec les macromolécules biologiques. Le dosage de ce composé présente donc un intérêt certain chez les végétaux soumis à des contaminations multiples (**Narbonne et al., 1991**).

Concernant nos résultats, les valeurs enregistrées pour les teneurs en substances : dont le MDA réagissant avec l'acide thiobarbiturique (TBA), indiquent que celles-ci augmentent avec l'addition de NPKs dans le milieu témoin. En effet, le contenu des Mousses et lichens en ces substances est le plus élevé chez les deux végétaux et avec les deux traitements (3 et 7 jours) en présence de (NPKs). Ce contenu augmente avec l'augmentation de la concentration en NPKs. Exception faite pour la concentration maximale 50mM qui présente des taux faibles de ces substances par rapport aux témoins.

En comparant ces résultats, nous remarquons que les mousses et les lichens accumulent moins de ces substances en présence de la concentration maximale de NPKs.

Le dosage des substances de MDA, au niveau des mousses et des lichens cultivées en présence de différentes concentrations en NPKs et du témoin montre que, sur ce dernier, l'échantillon accumule moins de ces substances, contrairement aux échantillons traités accumulant beaucoup de ces substances dénotant une forte peroxydation des lipides membranaires. Cette forte peroxydation est due à une grande dismutation des O_2^- , une des formes actives de l'oxygène (**Baisak et al., 1994 ; Sairam et Srivastava, 2002**). La diminution de la peroxydation des lipides chez les témoins suite à l'absence de NPKs traduit, selon **Xue et al. ; (2001)**, une diminution des effets oxydatifs des EAOx (espèces réactives de l'oxygène). Ceci constitue une preuve que la plante a bien profité du NPKs pour éviter ou réduire les dégâts occasionnés par l'accumulation des EAOx.

Ceci confirme bien la genèse d'un état de stress oxydatif au niveau des thalles (des lichens et des mousses) traitées par le NPKs. En effet, l'engrais peut entraîner la peroxydation des lipides membranaires en catalysant la formation de radicaux libres ou espèces oxygénées réactives ($1O_2$, O_2^- , OH, H_2O_2 , HOO.) lesquels s'attaquent aux lipides insaturés conduisant à la libération d'hydroperoxydes (RO., ROO., RCOO., etc...) très nocifs pour les constituants cellulaires (**Thompson et al., 1987 ; De Vos et al., 1993 ; Weeks et Clijesters, 1996**).

Afin d'expliquer ces différences physiologiques (favorables au développement des mousses et des lichens, nous avons émis l'hypothèse qu'elles étaient liées au stress oxydatif et nous avons procédé à l'analyse de l'activité de certaines enzymes anti-oxydantes en rapport avec la quantité de NPKs ajoutée au milieu de culture.

Parmi les éléments minéraux, l'azote joue un rôle très important par sa disponibilité et sa formulation chimique. En effet, la présence de l'azote (réduit ou oxydé) affecte le développement, la morphogénèse, la structure anatomique, la composition chimique des tissus, la machinerie cellulaire et moléculaire des végétaux (**Lewis et Chadwick, 1983 ; Vieitez et al., 1985 ; Cramer et Lewis, 1993 ; George, 1993**).

Tout déséquilibre d'azote peut soumettre la plante à une situation de stress nutritionnel responsable de changements de la balance hormonale interne. Le métabolisme des végétaux, leur croissance et leur développement peuvent être affectés par la genèse de formes actives de l'oxygène (FAOx)[Formes actives de l'oxygène] (**Scandalios, 1993 ; Gossett et al., 1994 ; Taylor et al., 2004**) telles que l'ion superoxyde O_2^- , la forme singulière de l'oxygène O_2^- , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou les radicaux hydroxydes OH^- (**Zarrouk, 1999**). L'accumulation des FAOx altère les composants cellulaires, provoquant ainsi soit une inhibition directe des enzymes, soit des réactions d'oxydation des protéines ou de peroxydation des lipides membranaires (**Mittler, 2002 ;**

Taylor et al., 2004). Des dommages oxydatifs de l'ADN et de l'ARN ont également été signalés (**Becana et al., 1998 ; Taylor et al., 2004**). Pour faire face à ces dommages, la plante peut utiliser ses systèmes de défense anti-oxydante de type enzymatique (SOD, CAT, POD, APX, etc.) et non enzymatique (ASC, GSH, vitamine E, caroténoïdes, flavonoïdes, etc.) (**Foyer et al., 1994a, 1994b**).

Les dérivés azotés peuvent se déposer à la surface du thalle par l'intermédiaire des dépôts secs et humides. Certains sont généralement plus facilement absorbés que des autres. Les ions de ces dérivés se fixent dans un premier temps sur la paroi avant d'être transférés dans la cellule (**Bargali, 1998a ; Bargali et Mikhailova, 2002**).

Sachant que les mécanismes de détoxification et/ou métabolisation des xénobiotiques mettent en jeu des systèmes enzymatiques utilisant des molécules d'oxygène pour leur activité comme les mono-oxygénases, les oxydases et superoxyde dismutase (SOD) (**Fournier,1993 ; Pelmont,1995**), nous avons jugé utile de nous poser la question suivante : **Quel est l'impact de cette molécule (NPKs) sur les métabolismes respiratoire et photosynthétique de nos modèles biologiques (mousses et lichens) ?**

Pour répondre à cette question, nous avons utilisé **la polarographie**, technique pouvant nous permettre d'atteindre deux objectifs :

- Le premier direct, lié à la consommation d'oxygène à travers le métabolisme respiratoire ;
- Le second indirect, et concerne l'oxygène consommé par les mono-oxygénases lors de la métabolisation du NPKs. Nos résultats sont assez révélateurs, ainsi, le NPKs provoque une stimulation de la photosynthèse chez les mousses et les lichens, et pendant les deux traitements (3 et 7 jours), autrement dit une production excessive d'oxygène dans le milieu de culture. Tandis qu'une inhibition du métabolisme respiratoire a été constaté pendant le traitement de 7 jours (çàd les témoins respirent mieux par rapport aux traités parqu'ils consomment plus d'oxygène),aussi bien chez les mousses que chez les lichens, après une nette stimulation de ce métabolisme pendant le premier traitement (3jours).

La pollution atmosphérique expose les végétaux à diverses formes d'azote qui peuvent être hautement toxiques (le dioxyde d'azote, l'ammoniac et l'ammonium). Parmi les réactions aux effets toxiques de ces composés, citons : la défoliation, la formation de cellules plus grosses à paroi mince, le jaunissement, l'apparition de lésions sur quelques organites de la plante (**Van Dijk et Roelfs,1988**) ainsi que la réduction de la résistance à la sécheresse (**Cape et al.,1991 ; Hall et al.,1997**).

L'effet direct le plus important sur la végétation résulte de l'interaction de ces diverses formes d'azote avec les autres polluants et l'altération de l'équilibre avec les autres éléments nutritifs. En effet, le dioxyde d'azote est responsable de l'augmentation de la respiration à l'obscurité chez l'haricot (**Sandhu et Gupta,1989**). A la concentration de $375 \mu\text{g}/\text{m}^3$, une augmentation de la respiration et de la photosynthèse à l'obscurité a été notée chez le soja (**Sabaratham et al.,1988**).

A la fin de cette partie d'expérimentation, nous pouvons conclure que le NPKs perturbe le métabolisme photosynthétique (stimulation pendant les deux traitements 3 et 7 jours) et respiratoire (Stimulation (traitement 3 jours) et inhibition (traitement 7 jours))des mousses et des lichens.

Nos résultats sont en parfait accord avec nos travaux précédents (**Khaldi, 2003 ; Bensoltane et al., 2005**) où on a mis en évidence une stimulation de la photosynthèse et une inhibition de la respiration chez ces végétaux. Or chez les végétaux supérieurs, l'un des mécanismes de défense contre une pollution atmosphérique c'est en effet une diminution de l'activité respiratoire et photosynthétique (**Palmqvist et al.,1998**).

L'autre effet inhibiteur de la respiration des mousses et des lichens n'est que peu surprenant, puisque les NOx, en plus de leur effet toxique sur la respiration des mammifères entre-autre (**Bensoltane,2007**) semblent affectés par la présence du polluant et présentent une diminution de leur consommation d'oxygène dans le milieu.Ce résultat est en accord avec ceux de **Salt et al.,(1998)** qui mettent en évidence une induction d'un système enzymatique de défense qui va

maintenir le xénobiotique au niveau des premières cellules atteintes qui seront ensuite sacrifiées par la plante entière. Une deuxième question s'impose alors : **Qu'elle est la relation entre ce phénomène avec la diminution de la respiration ?**

L'hypothèse la plus plausible a été émise par **Djebar (1988)**, qui explique que l'inhibition de la respiration observée chez des racines végétales en présence d'un xénobiotique est due à un découplage de la phosphorylation oxydative au niveau de la dernière étape de l'oxydation respiratoire c-à-d lors du transfert des électrons vers la molécule d'oxygène. Il s'ensuit alors une inhibition de la respiration malgré un fonctionnement normal de l'ATPase mitochondriale. Sachant que chez les végétaux, le phénomène de détoxification se traduit par un stockage du xénobiotique dans les vacuoles est indépendant du gradient d'ATP.

En conclusion,

Un lichen est une association symbiotique entre un champignon et une algue (dans la plupart des cas un Ascomycota et une algue verte). Le champignon fournit l'eau et les sels minéraux ainsi qu'une protection à l'algue, qui est capable de synthétiser de la matière organique via la photosynthèse. Les lichens sont des organismes poïkilohydriques, c'est-à-dire que leur humidité dépend de celle de l'environnement.

Ils sont pérennes, dépourvus de cuticule, de stomates et de racines, ce qui les rend exclusivement dépendants de l'atmosphère pour leur nutrition. N'ayant pas de moyen de protection vis-à-vis des polluants, ils absorbent les polluants présents dans l'air en même temps que les éléments qui leur sont nécessaires et les accumulent dans leurs tissus. Ces mécanismes d'accumulation ont été décrits et synthétisés dans diverses publications notamment par **Garty (2001)**. Selon cet auteur, les polluants (métaux lourds et autres) se déposent à la surface des lichens sous forme de particules sèches ou lors de précipitations sous forme humide (particules et/ou éléments dissous dans l'eau (cas de notre matériel chimique (NPKs)).

Les particules retenues à l'intérieur du thalle s'y désagrègent progressivement, et les éléments relargués se fixent sur les sites chargés extracellulaires (parietaux membranaires, généralement des groupes carboxyliques). Les formes ioniques se fixent très rapidement sur des sites pariétaux extracellulaires (de type carboxyliques ou thiols par exemple). Cependant, lorsque les éléments se trouvent sous forme de particules insolubles, ils n'en sont que très lentement extraits. Ainsi, ils sont accumulés dans les thalles selon les quantités de particules dans le milieu de culture, dans l'atmosphère et selon la période d'exposition (**Bergamaschi et al., 2007**).

In fine, en fonction de leur spéciation dans les thalles, les polluants (xénobiotiques) peuvent pénétrer au sein des cellules par des mécanismes actifs et passifs (**Cuny et al., 2002**).

Les mousses comme les lichens, ce sont des organismes poïkilohydriques. Elles n'ont aucune parade contre la dessiccation, mais elles sont capables de reviviscence après un état de déshydratation. Même si elles se développent préférentiellement dans les endroits humides, elles sont capables de s'adapter à des environnements plus secs @⁴.

Les mousses sont des végétaux de forme thalloïde, qui ne possèdent pas de racine mais des rhizoïdes qui permettent leur ancrage, mais n'interviennent pas dans l'absorption d'eau. Leur cuticule mince est généralement dépourvue de cires

Les mousses absorbent donc directement l'eau et les éléments nutritifs, mais aussi les polluants présents dans les dépôts atmosphériques humides ou secs. De part l'absence de système racinaire et de cuticule bien développée, le substrat a peu d'influence sur les niveaux de contaminants dans leur tissus, et le piégeage des polluants se fait très facilement. L'accumulation des polluants se fait principalement via des mécanismes d'échanges cationiques avec une très faible résistance à la diffusion des éléments absorbés. L'architecture des mousses et leur grande capacité d'échanges permettent une bonne accumulation des particules (**Amblard-Gross et al., 2002 ; Fernandez et al., 2002**).

De plus, les mousses sont particulièrement résistantes aux substances toxiques qu'elles accumulent, ce qui en fait des organismes adéquats pour la biosurveillance (**Krommer et al., 2007**). Certains

auteurs concluent que les mousses seraient plus performantes pour le piégeage des polluants (xénobiotiques) présents dans les dépôts humides et grossiers que pour l'accumulation des dépôts secs (**Sucharova et Suchara,1998**).

1.Introduction

Depuis 1970, les études concernant l'écologie des lichens se sont multipliées, notamment avec les recherches appliquées à la pollution atmosphérique, en raison de la sensibilité particulière des lichens à la qualité de l'air, grâce à leur longévité, leur croissance, leur fonction photosynthétique continue, et leur capacité d'accumulation (**Khalil et Asta, 1998**). La pollution atmosphérique modifie le développement de la flore lichénique : selon l'intensité et la nature de la pollution, les lichens présentent des altérations morphologiques et structurales et parfois même, disparaissent totalement.

Belandria et Asta (1986), ont confirmé la sensibilité des lichens aux pollutions atmosphériques, mais soulignent aussi, le fait, qu'ils sont également très dépendants des autres facteurs limitants du milieu, de la nature du substrat en particulier.

Les travaux de **Hawksworth et Rose (1970)**, ont conduit à l'établissement d'une échelle de sensibilité des espèces lichéniques vis-à-vis de la pollution atmosphérique et plus précisément, vis-à-vis de la pollution par SO₂. Ces auteurs ont ainsi établi une échelle de corrélation lichens-pollution, comportant onze niveaux numérotés de 0 (pollution forte), à 10 (air pur). Chaque niveau est défini par plusieurs espèces d'amplitude écologique assez large, regroupées en communautés différentes, selon qu'elles se développent sur écorce basique ou acide.

Une deuxième méthode, celle de **Van Haluwyn et Lerond (1986)**, est basée sur une technique utilisant les principes de la lichénosociologie. Ces auteurs, proposent d'utiliser une échelle de sept zones, notées de A à G définies à partir d'espèces facilement identifiables : les zones A,B,C,D et E correspondant à des régions moyennement à très fortement polluées, les zones F ,G caractérisant des régions faiblement polluées (**Khalil et Asta, 1998**).

Les recherches appliquées à la pollution atmosphérique avec les lichens comme indicateurs biologiques, ont d'abord concerné la pollution acide (**Lerond et Van Haluwyn,1981**). Des relevés de la flore lichénique suffisent à déterminer un taux d'acidité forte. Par contre, la détection d'autres polluants comme le fluor, les radio-éléments et les métaux lourds nécessite leur dosage dans des thalles et fait appel à des techniques plus élaborées (**Déruelle et Lallement, 1983**).

La pollution de l'air par des émissions de gaz, de poussières, d'odeurs est une des formes de nuisance à laquelle l'opinion est, à juste titre, la plus sensible. Pour protéger la qualité de l'air, il est nécessaire de connaître la nature des polluants, de savoir les doser et les traiter. C'est une action fondamentale, car c'est sur elle que repose l'élaboration des stratégies des réductions des quantités de polluants rejetés dans l'atmosphère (**Signal et al.,2008**).

Les recherches appliquées à la pollution atmosphérique, en utilisant les lichens comme bioindicateurs, se sont multipliées. Les premières estimations de la pollution atmosphérique,

par ces végétaux, ont d'abord concerné la pollution acide (**Gilbert,1970**), précédées par les premiers travaux relatifs à l'accumulation des radioéléments et des métaux lourds par les lichens (**James, 1973 ; Gailey et al.,1985**).

Le problème est de savoir, si les lichens, déjà susceptibles de détecter une dépollution fluorée (**Semadi,1989**) ou une dépollution acide, peuvent témoigner de la diminution de la pollution par les NOx. Le phénomène d'exsorption déjà mis en évidence à la faveur de la retransplantation d'échantillons dans leur site d'origine non pollué, semble indiquer, que les lichens, réagissent rapidement à une dépollution de l'air (**Déruelle,1996**).

Les travaux publiés en **1997** par **Cislaghi et Nimis** ont pu mettre en évidence l'intérêt d'une utilisation épidémiologique des lichens. Ces auteurs ont analysé, à l'aide d'une étude de type écologique, les relations entre mortalité par cancer en Vénétie (**1981-1988**) et un indice de bio-surveillance lichénique. Ils ont observé, à l'aide de techniques de modélisation spatiale sophistiquées, une corrélation entre mortalité par cancer pulmonaire chez les hommes de moins de 55 ans et l'indice de biodiversité lichénique (**Cislaghi et al., 1996**).

Le complexe d'engrais phosphato-azotés de Annaba « **FERTIAL** » entre dans le cadre de la promotion de l'agriculture algérienne, qui représente un outil indispensable à l'indépendance du pays, sur le plan de l'autosuffisance alimentaire. Cette institution est située sur la cote-est de la ville

de Annaba .De ce fait, elle contribue de façon relativement importante à l'augmentation des teneurs en poussières, NO_x et NH₃. Il est alors intéressant d'avoir recours à des végétaux indicateurs de façon à pouvoir estimer l'impact de ces polluants sur l'environnement.

Une étude fait référence à la bio-estimation de la pollution globale, issue d'une usine d'incinération à l'aide des lichens (**Loppi et al., 1995**). La capacité de bioaccumulation des lichens nous est apparue une approche judicieuse pour évaluer l'impact de « **FERTIAL** » productive de fertilisants sur l'environnement.

Construite en **1972**, cette unité productive d'engrais phosphato-azotés a fait l'objet, de **1995** à **1997**, d'une rénovation visant à optimiser sa capacité de production et à appliquer les normes de rejet en vigueur (après le projet de la banque mondiale, les rejets de polluants ont diminués : **NO_x** :de 1188 à 275 Tonnes/an, **NH₃** :de 2291 à 45,6 Tonnes/an) (**U.E.F, 2010**) .

En raison de l'insuffisance des réseaux de capteurs et de leur fiabilité peu élevée, l'utilisation d'indicateurs biologiques est la seule possibilité pour suivre l'évolution de la pollution atmosphérique.

L'absence de dosages réguliers et l'existence de variations périodiques des conditions de dispersion des polluants ne permettent pas de mesurer de façon représentative, l'intensité de la pollution atmosphérique. Ces inconvénients liés aux modalités de fonctionnement des capteurs utilisés et à la variabilité des facteurs climatiques, n'existent pas avec les lichens qui intègrent en permanence les variations de la qualité de l'air (**Déruelle, 1984**).

Actuellement, les outils de diagnostic sont surtout recherchés au niveau infra-individuel (moléculaire, cellulaire et physiologique). Il convient également de préciser que pour des micropolluants, l'analyse directe dans l'air devient difficile voire impossible pour certains composés. A cet égard, l'utilisation de cibles bioaccumulatrices judicieusement choisies présente des avantages indéniables (**Mersch et Claveri, 1997**).

2. Généralités les sur lichens

Le terme de lichens est d'origine grecque et se trouve pour la première fois dans les écrits de **THEOPHRASTE** qui désigne ainsi les plantes croissant sur les troncs d'arbres, auxquels on attribuait à l'époque des vertus médicinales.

Durant les époques suivantes, les lichens ne sont que très épisodiquement mentionnés, leur étude en tant que groupe botanique distinct est relativement récente, bien qu'au 17^{ème} siècle, on les a pour la première fois séparés nettement des algues et des bryophytes.

- 1729, l'Italien **MECHELI** décrit de nombreux lichens et suit le développement des lichens à partir des amas pulvérulents.
- 1741, l'Allemand **DJILEUIS** établit une classification dans son étude : « *Historia Muscorum* ».
- 1753, **LINNE** rangeait les lichens parmi les algues, en les réunissant presque tous dans un genre unique « Lichens ».
- 1798, Le Suédois **ACHARIUS** a fait de la lichénologie une branche spéciale de la cryptogamie, et distingue les lichens des autres cryptogames, la terminologie qu'il a créée est utilisée jusqu'à nos jours.
- 1825, **WALLROTH** distingua les éléments verts du thalle.
- 1846, **DE NOTARIS** montra l'intérêt des spores pour la classification des lichens et l'établissements des genres.

Il fut suivi par **MASSALONGO**, l'Allemand **KOERBER** et le Finlandais **NYLANDER**. Ce dernier jusqu'à sa mort (1899) décrit environ 3000 espèces nouvelles, et c'est lui qui a découvert en 1869 les réactions chimiques des lichens et appliqua à l'identification des espèces.

- 1852, **TULSANE** publia un mémoire sur l'anatomie des lichens et sur les organes reproducteurs.

- 1855, SACHS (Botaniste Allemand) émis pour la première fois l'hypothèse que les lichens résultent de l'association d'une algue et d'un champignon.
- 1866, DE BARRY émis l'hypothèse qui dit que certains lichens n'étaient que des algues pénétrées par des filaments.
- 1900, l'ABBE HUE fait connaître l'anatomie de nombreux lichens et fonde dessus une classification.

En Algérie, plusieurs données ont été publiées sur la flore lichénique :

- 1876, le célèbre Docteur NYLANDER publia l'excellent catalogue « Prodomus Lichenophioe Gallioe et Algerioe ».
- 1896, FLAGEY a publié « catalogue des lichens d' Algérie ».
- 1951 à 1954, FAUREL, OZENDA et SCHOTTER ont travaillé sur la flore lichénique d'Algérie.
- 1965, TROTET a travaillé sur la flore lichénique du Sahara.
- 1983-1989, SEMADI étudia la flore lichénique de la région d'Annaba en portant l'accent sur leur qualité de bioindicateurs.
- 1984, ZOUAOUI a étudia les lichens de la région de Grande Kabylie.
- 1985-1986, ZEIMECHE étudia la flore lichénique dans l'Est Algérien.
- 1986, BELBECKOUCHE étudia la flore lichénique dans la région de Constantine.
- 1987, RAIDI étudia les différentes espèces de lichens de la foret de Lakhdaria.
- 1992, DJEBAR et FRADJA sous la direction du défunt professeur SEMADI étudièrent les espèces de lichens dans la région d'El Kala.

On appelle lichen, tout végétal résultant de l'association symbiotique entre un eumycète et un cyanophyte ou un chlorophycée (**Ozenda et Clausade,1970**).L'algue autotrophe ,grâce à sa chlorophylle, procure la substance organique et le champignon protège l'algue et la garde humide (**Des abbayes,1978**).

L'efficacité de la symbiose est procurée par les habitats peuplés des lichens ou ni un champignon seul, ou une algue isolée, ne pourrait subsister. L'autotrophie des lichens et leur reviviscence, leur permet la conquête de l'espace défavorable pour d'autres formes de végétation.

3.Morphologie

Les lichens sont des thallophytes. Leur appareil végétatif est un thalle ne représentent ni feuilles, ni tiges, ni racines, ni appareil conducteur et portant les organes de reproduction (**Ozenda,2000**). Les thalles de lichens ont des formes très variées, parmi lesquels, on distingue plusieurs grands types morphologiques.

- ✓ **Thalles fruticuleux** : ils forment des faisceaux de tiges plus au moins ramifiées.
C'est la forme la plus sensible aux rejets polluants.
- ✓ **Thalles foliacés** : Ils ressemblent à de petites feuilles plus au moins lobées
- ✓ **Thalles crustacés** : Ce sont les thalles les plus largement représentés.
Les espèces crustacées aux échanges faibles et à croissance plus lente que les espèces foliacées et fruticuleuses, sont moins affectées par la pollution atmosphérique et résistent mieux à l'environnement urbain et industriel.
- ✓ **Thalles gélatineux** : Formés par des filaments très fins.
- ✓ **Thalles squamuleux** : Ce sont des thalles formés par des sortes d'écailles, plus au moins rapprochés et contigües.
- ✓ **Thalles composites** : Ils comportent un thalle primaire crustacé, squamuleux ou plus rarement foliacé et un thalle secondaire fruticuleux (**Ramade ,1995**).

4. Caractéristiques de la zone d'étude (Annaba)

4.1. Localisation géographique

La ville de Annaba est située à l'est de l'Algérie, entre les latitudes (36°30) Nord et les longitudes (07°20) Est et (08°40) Est. Elle est bordée au Nord par la mer méditerranéenne, à l'est par la wilaya d'El-Taref, au sud par la wilaya de Guelma, à l'Ouest par la wilaya de Skikda.

Elle couvre une superficie de **1411,98Km²**, regroupe **12** communes et comprend **06** Daïra (ANPE, 1989).

4.2. Données climatiques

4.2.1. Températures

Ce paramètre est fonction de l'altitude, de la distance à la mer, et de la position topographique. La température maximale pouvant atteindre 26° C en (2009). Les températures les plus basses sont enregistrées en altitude durant l'hiver. Au niveau de la mer, les températures descendent très rarement à 10.5°C. Elles présentent des amplitudes thermiques élevées entre les mois les plus froids et les mois les plus chauds.

Tableau 6 . Températures moyennes mensuelles (°C), enregistrées à Annaba en 2009
(Station météorologique les salines d'Annaba).

JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUI	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC
11	10.5	12.1	14.4	19.5	22.8	25.9	26	22.8	18.9	15	13.7

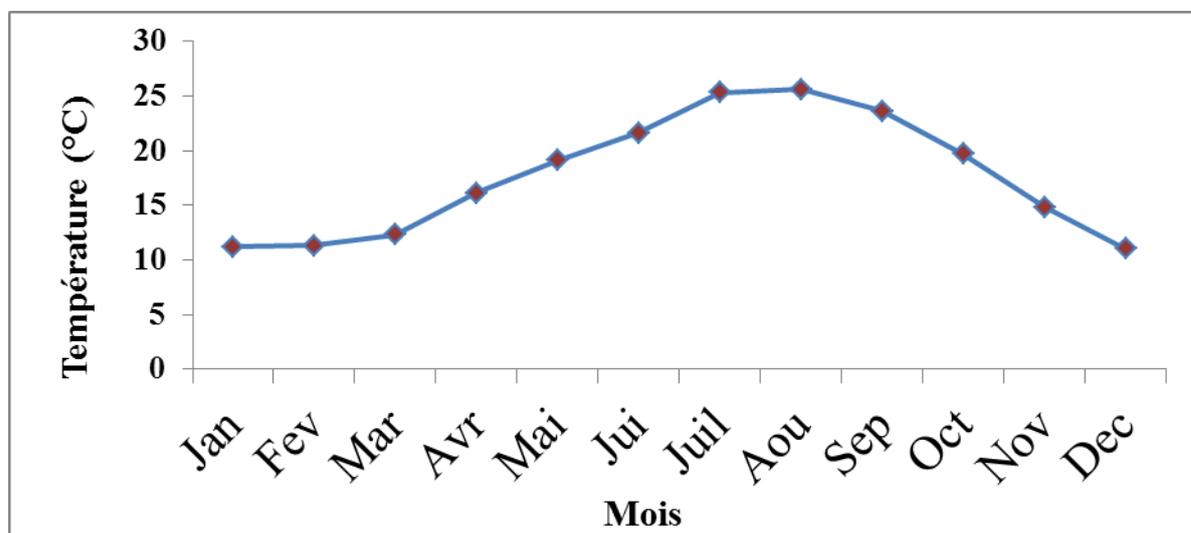


Figure 47. Températures moyennes mensuelles (°C), enregistrées à Annaba en 2009 (Station météorologique les salines d'Annaba).

Tableau 7. Températures moyennes mensuelles (°C), enregistrées à Annaba en 2008 (Station météorologique les salines d'Annaba).

JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUI	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC
11.2	11.3	12.3	16.1	19.1	21.6	25.3	25.6	23.6	19.7	14.8	11

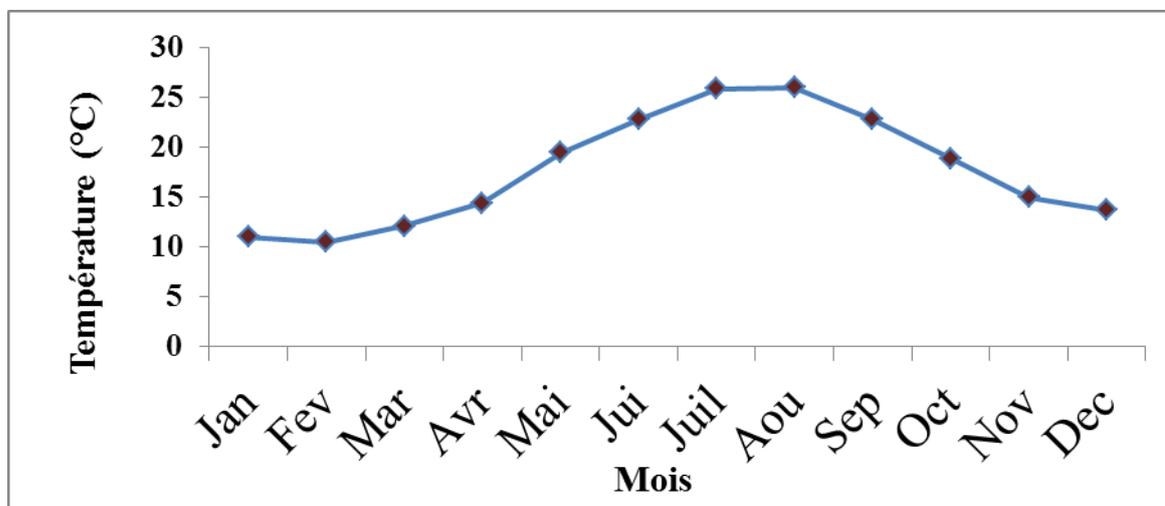


Figure 48. Températures moyennes mensuelles (°C), enregistrées à Annaba en 2008 (Station météorologique les salines d'Annaba).

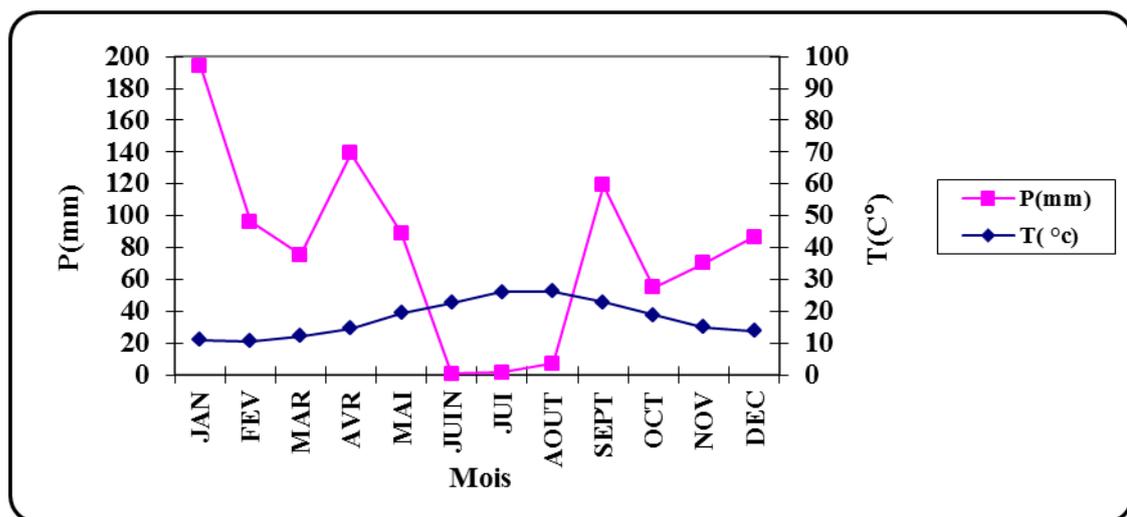


Figure 49. Diagramme ombrothermique de GAUSSEN de la région d'Annaba (2009).

4.2.2. Les précipitations

Cinq stations pluviométriques (Annaba, Aéroport, Pont Bouchet, Kef Mourad et El Karma) sont implantées dans la plaine d'Annaba, leurs périodes de fonctionnement varient d'une station à une autre. La station de Pont Bouchet, appartenant à l'ANRH (Agence Nationale des Ressources Hydrauliques) servira de référence, compte tenu de sa situation au centre de la zone d'étude (basse plaine de la Seybouse) et de la fiabilité des données (les mesures étant continues et effectuées par le même opérateur). Des données mensuelles pour 2008 et 2009, années du suivi.

Tableau 8. Précipitations moyennes mensuelles (mm) enregistrées à Annaba en 2008 et 2009 (Station météorologique les salines d'Annaba).

Mois Année	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUI	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC
2008	14	17	99	16	42	2	7	0.02	60	49	41	87
2009	217	83	91	127	90	0.02	2.2	0.6	122	53	72	83

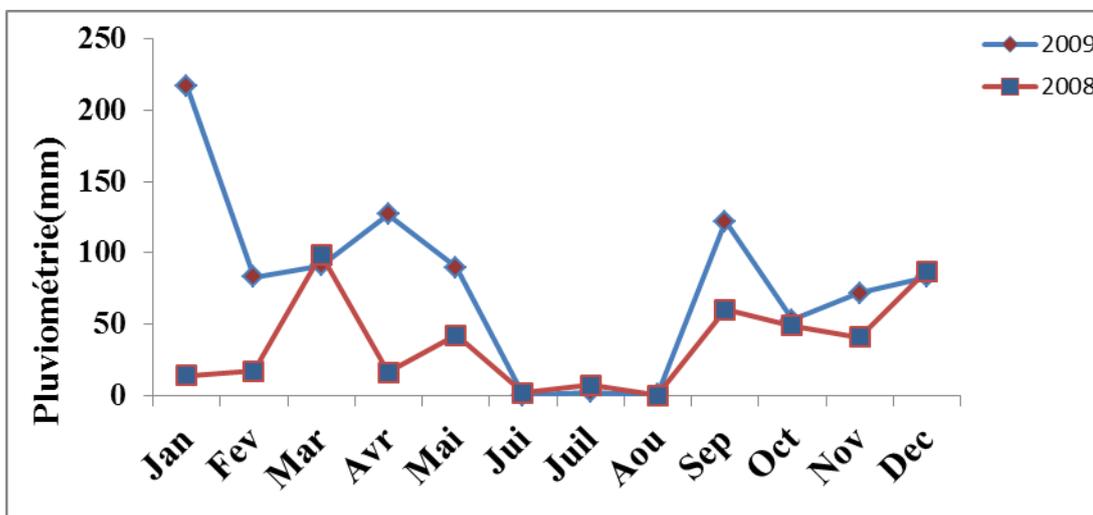


Figure 50. Précipitations moyennes mensuelles (mm) enregistrées à Annaba en 2008 et 2009
(Station météorologique les salines d'Annaba).

4.2.3. L'humidité

Dans la région de Annaba, le degré hydrométrique est très élevé, tout au long de l'année. La mer et les nombreux plans d'eau, contribuent au maintien d'une hydrométrie élevée en été, modérant la durée et l'intensité de la sécheresse estivale.

L'évaporation intense des zones humides et la proximité de la mer, entretiennent une humidité élevée tout au long de l'année. Les valeurs extrêmes sont enregistrées à la fin de l'été et au début de l'hiver. (Janvier 2008 et 2009).

Tableau 9. Hygrométries (%) moyennes mensuelles enregistrées à Annaba en 2008 et 2009
(Station météorologique les salines d'Annaba).

Mois Année	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUI	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC
2008	81	80	79	71	76	77	73	74	74	79	71	79
2009	82	76	52	79	79	71	72	77	77	79	76	76

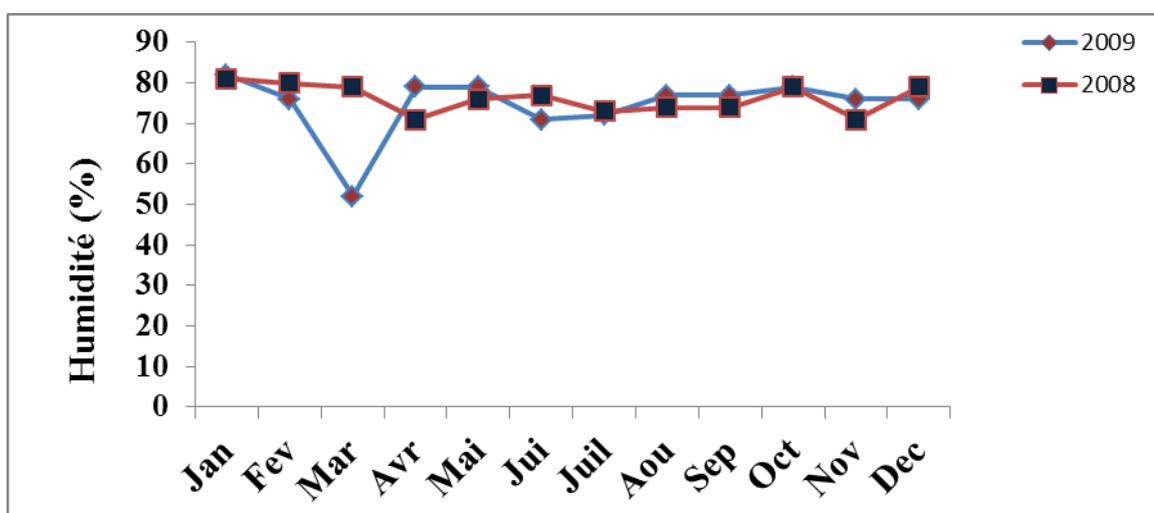


Figure 51. Hygrométries (%) moyennes mensuelles enregistrées à Annaba en 2008 et 2009
(Station météorologique les salines d'Annaba).

4.2.4. Le vent

Le vent est un facteur climatique non négligeable pour le fonctionnement des différents écosystèmes de la région.

Tableau 10. Vitesses moyennes mensuelles du vent (Km/h) enregistrées à Annaba en 2008 et 2009 (Station météorologique les salines d'Annaba).

Mois Année	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUI	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC
2008	3.1	2.9	3.7	4.0	3.6	3.9	5.4	4.3	3.8	3.3	3.7	3.4
2009	3.7	4.0	3.7	3.8	3.3	3.6	3.6	3.8	3.6	4.0	3.1	3.5

Le régime des vents dominants supérieurs à 6m.s-1 est de provenance nord nord-est (30%), nord (13%) et ouest (10%).

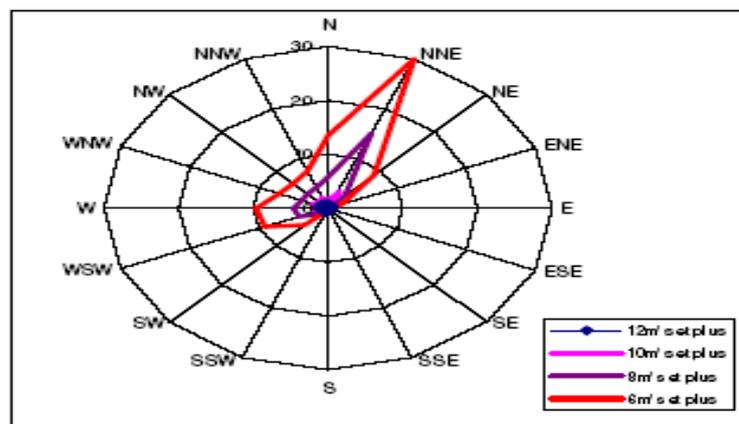


Figure 52. La rose des vents 2009(Annaba d'après les Salines le centre météorologique de l'aéroport)

But de travail

Cette recherche a pour objectif l'étude du devenir des polluants atmosphériques (NO_x et poussières) sur des végétaux inférieurs : les lichens, ils ont été sélectionnés comme modèles biologiques.

Dans ce chapitre, nous tenterons d'apporter notre contribution sur l'utilisation des lichens comme bio-indicateurs de la pollution et par-là même leur comportement vis-à-vis des polluants atmosphériques, particulièrement ceux rejetés par « **FERTIAL** ».

Dans la deuxième partie de l'expérimentation, nous nous sommes fixés trois objectifs principaux :

- Nous testerons l'effet des polluants atmosphériques sur quelques paramètres physiologiques et biochimiques (**Teneurs en chlorophylles *a*, *b* et (*a+b*), teneurs en proline, teneurs en sucres totaux, teneurs en protéines totales et taux MF/MS**) chez des espèces végétales connues comme étant des bio-indicateurs : les lichens.
- D'autre part, nous étudions le comportement de ces végétaux sur le plan enzymatique vis-à-vis des xénobiotiques à travers le suivi des bio-marqueurs enzymatiques de détoxification (**GST et GSH**).
- Enfin, nous évaluerons l'effet de cette pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire et photosynthétique des lichens en fonction de leur transplantation au niveau des différents sites choisis ultérieurement (Partie I et II).

1. Technique de transplantation des lichens

1.1. Historique

Les premières transplantations de lichens ont été réalisées il ya une centaine d'année dans la ville de Munich (**ARNOLD ,1891-1901**). Depuis deux techniques ont été abondamment utilisées pour les transplantations de lichens épiphytes :

- La première technique a été mise au point par **BRODO (1961)**. Elle consiste à greffer un disque d'écorce supportant un lichen sur un phorophyte de même espèce, en absence d'arbres, **SCHONBECK(1969)** propose de fixer les disques d'écorce sur des planches.
- La deuxième technique consiste à exposer en milieu pollué des branches recouvertes de thalles épiphytes. C'est la technique que nous avons choisie dans notre expérimentation. Ainsi des thalles d'*hypogymnia physodes* (**Déruelle et Guilloux,1993**) et de *Ramalina duriaei* (**Garty et Fuchs,1982**) ont été, de cette façon, soumis à la pollution automobile.

La technique de transplantation, déjà largement répandue dans les études de bioaccumulation a été utilisée plus récemment pour la recherche de biomarqueurs (teneur en chlorophylle, paramètres de stress oxydant, etc ...).

1.2. Durée des transplantations

Les transplantations ont été effectuées à deux reprises : le 22 Janvier et le 21 Février 2008/2009 sur les 5 sites. La durée maximale de transplantation n'a pas dépassé 1mois : le premier prélèvement a lieu le jour de la deuxième transplantation, et pour cette dernière le prélèvement a été effectuée le 22 Mars 2008/2009.

Les thalles transplantés ont toujours été prélevés le même jour pour chaque site et des échantillons témoins ont été récoltés sur les sites de prélèvement témoin (Séraïdi) le même jour que les lichens transplantés.

1.3. Stratégie et lieux de transplantation

La stratégie d'échantillonnage mise en œuvre pour le prélèvement des lichens et la mise en place des transplants est basée sur l'éloignement du complexe d'engrais phosphato-azotés **FERTIAL** et sur la direction des vents dominants (**Gombert et Asta,1997**)(rose des vents fournie par la station les Salines de Annaba située approximativement à 5 Km de l'usine).

Ces transplants végétaux ont été utilisés dans le but de mettre en place une stratégie de surveillance de la pollution par les NOx émise par le complexe d'engrais phosphato-azotés « **FERTIAL** » de ANNABA.

Cinq sites de transplantation ont été retenus : **400m,800m,1200m,1600m et 2000m** par rapport à l'usine FERTIAL.

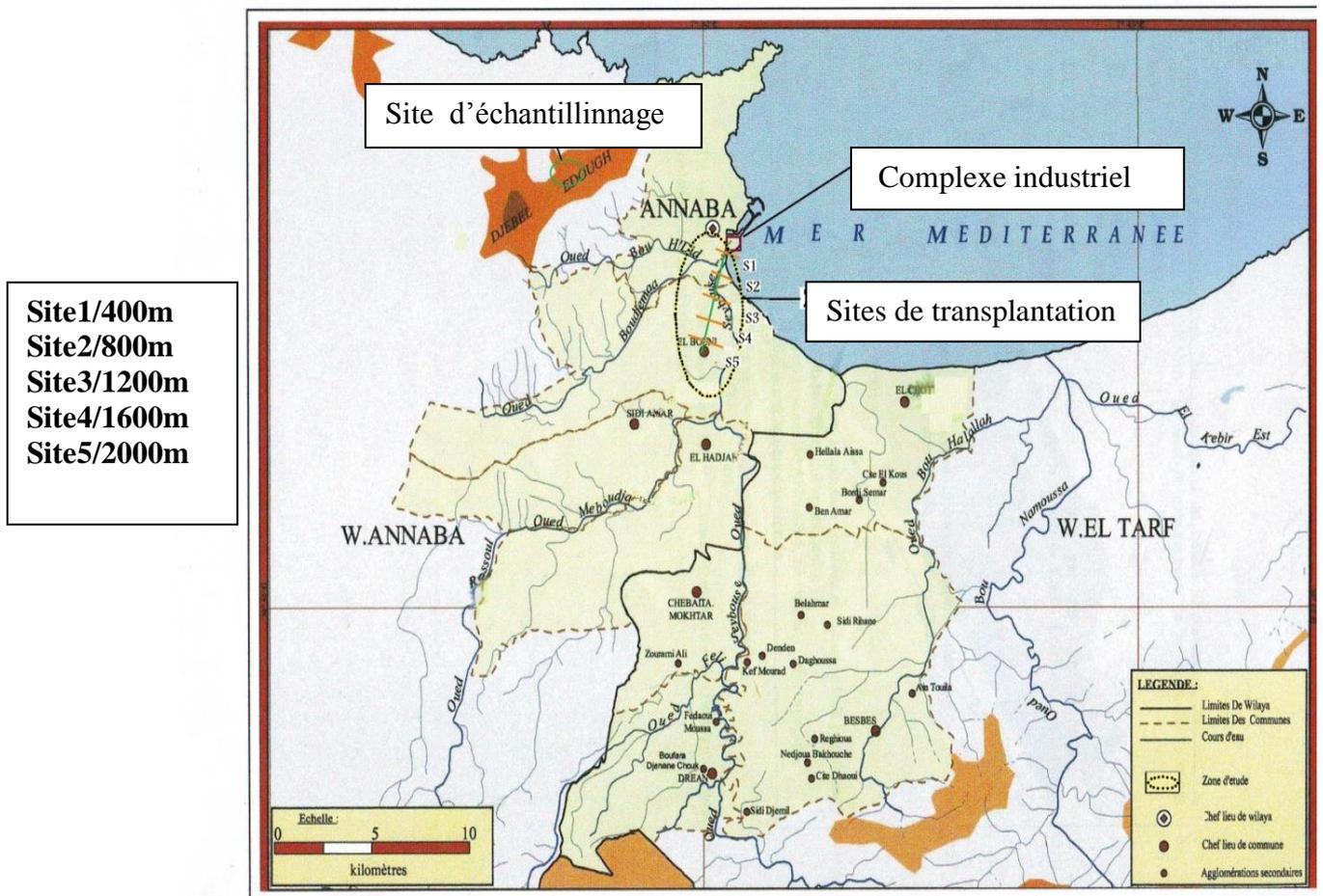


Figure 53. Représentation de la zone d'échantillonnage et la zone de transplantation par rapport au complexe des fertilisants « FERTIAL » de ANNABA (carte du réseau hydrographique de la plaine d'Annaba,2008) .

1.4. Récolte de l'espèce lichénique

Un recensement lichénique effectuée sur l'agglomération de **Séraïdi** a permis de choisir l'espèce lichénique *Ramalina farinacea*. Celle-ci y est en effet bien développée et abondante et possède un thalle fruticuleux se prélevant aisément.

Plusieurs thalles de *Ramalina farinacea* ont été récoltés sur les écorces des arbres de plusieurs stations dans des conditions standardisées (hauteur de prélèvements à **1,50-2 m** du sol) (**Sémadi et Deruelle,1993**).

L'échantillonnage a été effectué en Janvier et Février 2008 et 2009 dans l'agglomération selon la stratégie d'échantillonnage définie précédemment.

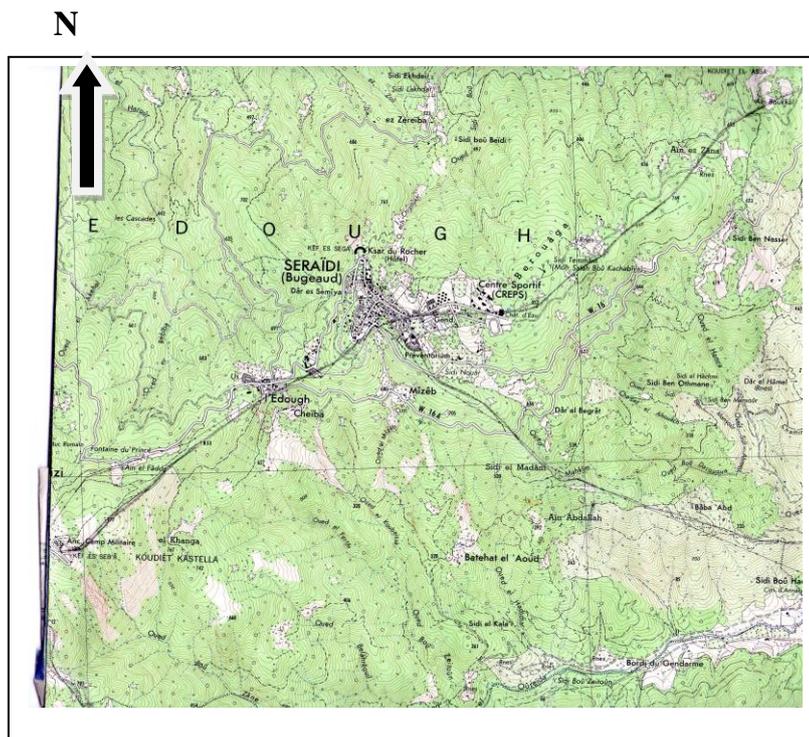


Figure 54. *Carte Topographique de Séraïdi N°.3-4(échelle :1/25000(INC)*

*Institut National de Cartographie(France)
Carte d'Algérie (1960)*

2. Estimation de la pollution atmosphérique

2.1. Choix des sites d'échantillonnage

Pour mieux estimer les niveaux de pollution atmosphérique dans la région de Annaba, il est important de choisir des sites correctement distribués près des principales sources de pollution (Complexe « **FERTIAL** » : société des fertilisants d'Algérie et le Complexe sidérurgique d'El-Hadjar « **ARCELOR- MEETAL** »).

2.2. Technique de transplantation

Parmi les techniques de transplantation, nous avons appliqué la méthode qui consiste à exposer en milieu pollué, des branches recouvertes de thalles lichéniques après leur prélèvement dans leur milieu naturel de la zone témoin (Séraïdi). Par la suite, nous avons transférés (transplantés) au niveau des différents sites choisis préalablement.

Ces branches lichéniques d'une longueur de 10-20-30cm sont fixées à l'aide d'une ficelle, sur divers supports et pendant un temps déterminé (**Semadi et Déruelle, 1993**).

Le modèle biologique utilisé dans notre expérimentation est un lichen de l'espèce : *Ramalina farinacea* récoltée dans une région considérée non polluée : **Séraïdi**, située à 14 Km à l'Ouest de Annaba et à 850 m d'altitude. Cette région est caractérisée par l'abondance du chêne-zeen (*Quercus faginea*) et du chêne-liège (*Quercus suber*). Les thalles de *Ramalina farinacea* sont prélevés du chêne-liège.

L'espèce choisie est un lichen fruticuleux caractérisé par un thalle développé en longueur à partir d'un seul point de fixation (**Ozenda, 2000**) et qui est formé de rameaux étroits, s'amincissant peu à peu et recouverts de soréliens marginales (**Jahns, 1989**). Sur le terrain, nous avons détaché les thalles lichéniques qui existent sur les troncs d'arbres ; les échantillons sont ensuite conservés dans des sachets en plastique bien fermés afin de limiter les pertes d'eau par évapotranspiration.

2.3. Dosage du rapport MF/MS

1. Après avoir prélevé des échantillons frais de lichens, nous pesons **1,5g** de ces thalles lichéniques (MF).
2. On les place à l'étuve à 105°C pendant 48 à 72 heures (MS).

➤ Objectifs :

- Le rapport MF/MS est établi pour obtenir la valeur de l'indice de pollution c'est-à-dire pureté de l'air.
- Si la pollution atmosphérique peut causer des dommages sur les plantes (lichens)

—————→ MF/MS

3.1. Effets de la pollution atmosphérique sur les paramètres biochimiques des lichens

3.1.1. Variations de la teneur en proline

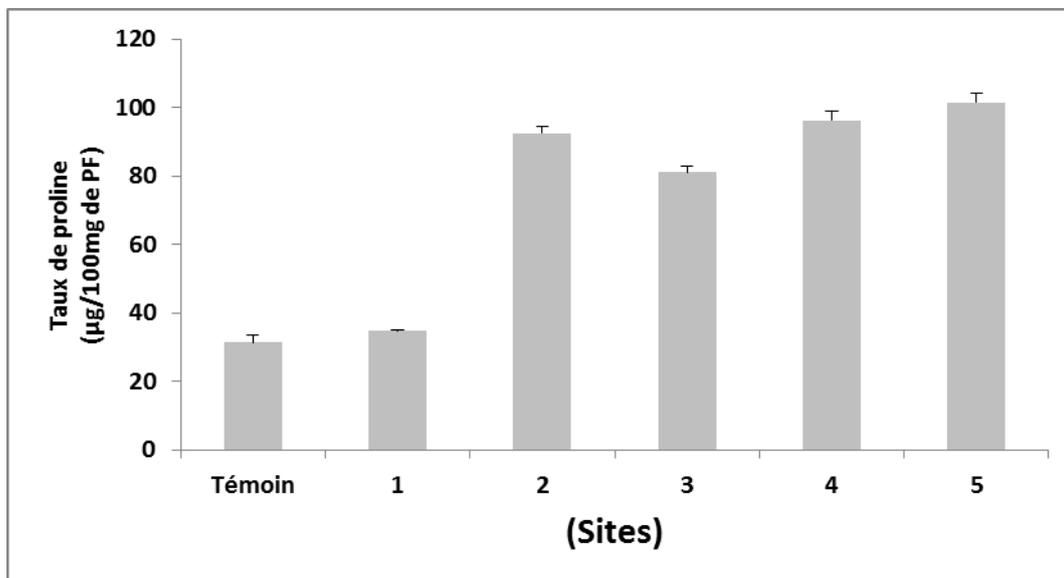


Figure 55 . Variations de la teneur en proline chez *Ramalina farinacea* au niveau des différents sites (Année 2008).

La figure (55) montre que les taux les plus faibles de proline sont enregistrés au niveau du site témoin et du site 1, tandis que les taux les plus élevés sont enregistrés au niveau des sites 2, 4 et 5.

Les variations globales de la proline chez *Ramalina farinacea*, montrent que le site 5 est le plus affecté avec une valeur maximale de **101,43µg/100mg de PF** par contre la valeur minimale est enregistrée chez le témoin avec **31,49µg/100mg de PF**.

Aucune différence significative entre la teneur en proline chez les échantillons témoins et les échantillons transplantés au niveau du (site 1) avec ($p > 0,05$), alors que des différences très hautement significatives ont été révélées pour les échantillons transplantés au niveau des autres sites (2, 3, 4 et 5) avec ($P < 0,001$).

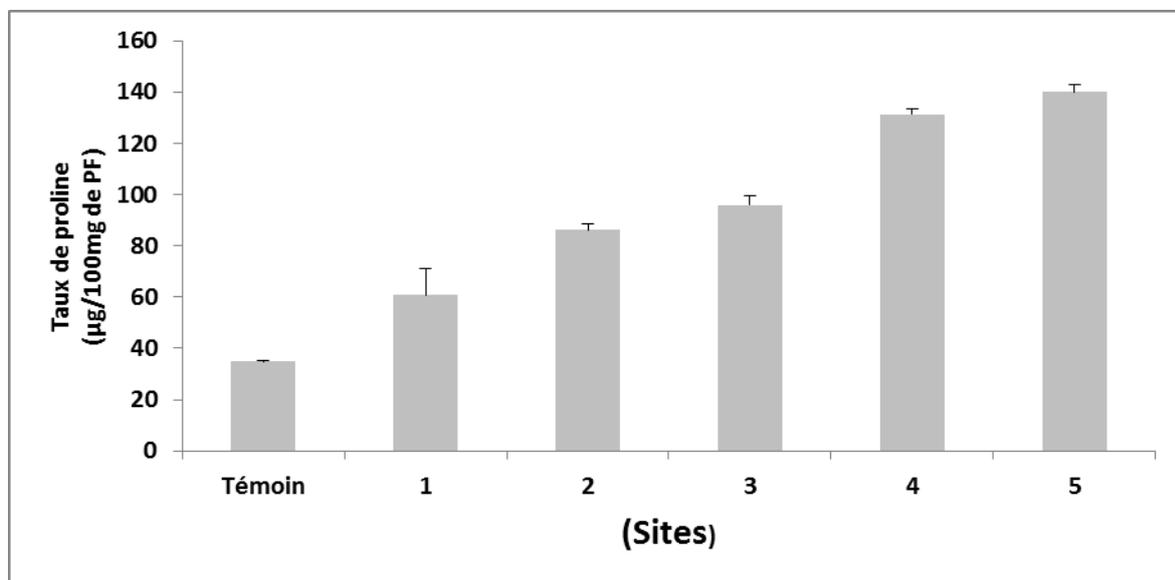


Figure 56. Variations de la teneur en proline chez *Ramalina farinacea* au niveau des différents sites (Année 2009).

La figure (56) met en évidence les variations de la teneur en proline qui augmentent en fonction de la distance par rapport au complexe **FERTIAL**, ceci correspond aux concentrations des polluants, c'est à dire la zone la plus polluée.

Les valeurs les plus élevées sont enregistrées au niveau du site 5, bien que les autres sites présentent des valeurs supérieures à celles du témoin.

Comme pour la transplantation de 2008, les variations de la proline chez *Ramalina farinacea*, mettent en évidence que le site 5 est le plus affecté avec une valeur maximale de **140,07 µg/100mg de PF** par contre la valeur minimale est enregistrée chez le témoin avec **34,79 µg/100mg de PF**.

L'analyse statistique révèle des différences significatives entre le taux de proline chez les échantillons témoins et les échantillons transplantés au niveau du (site 1) avec ($p < 0,05$), ainsi que des différences très hautement significatives pour les échantillons transplantés au niveau des autres sites (2,3,4 et 5) avec ($P < 0,001$).

3.1.2. Variations des teneurs en protéines totales

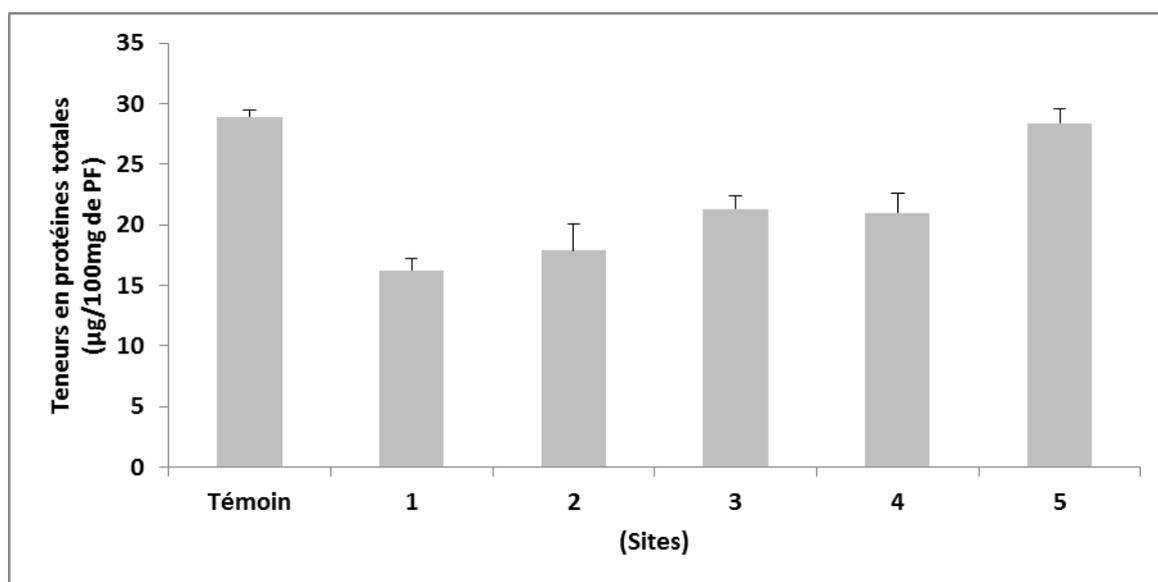


Figure 57. Variations des teneurs des protéines totales chez *Ramalina farinacea* au niveau des différents sites (Année 2008).

La figure (57), met en évidence les variations des teneurs en protéines totales chez *Ramalina farinacea*, en fonction des sites de transplantation. Nous constatons que chez les échantillons transplantés au niveau des sites choisis vers le plus éloigné de la source polluante, le taux de protéines totales tend à augmenter de manière site-dépendante. La valeur la plus élevée est enregistrée au niveau du site 5 soit : **28,39 µg/100mg de PF** par rapport à celle du site 1 qui est de : **16,22 µg/100mg de PF**.

L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative entre les teneurs des protéines totales chez les échantillons témoins et les échantillons transplantés au niveau du (site 5) avec ($p>0,05$), alors que des différences très hautement significatives ont été révélés pour les échantillons transplantés au niveau des autres sites (1,2,3 et 4) avec ($P < 0,001$).

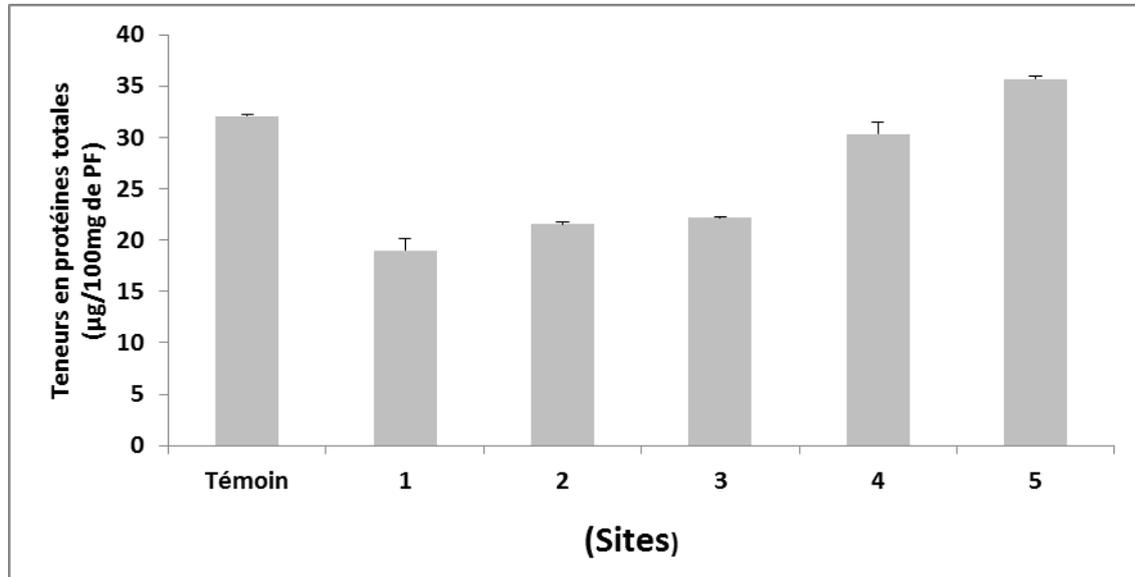


Figure 58. Variations des teneurs des protéines totales chez *Ramalina farinacea* au niveau des différents sites (Année 2009).

La figure (58) met en évidence les variations des teneurs en protéines totales chez *Ramalina farinacea* en fonction des sites de transplantation, nous constatons que chez les échantillons transplantés au niveau des sites choisis vers le plus éloigné de la source polluante, le taux de protéines totales tend à augmenter de manière site-dépendante. La valeur la plus élevée est enregistrée au niveau du site 5 soit : **35,69 µg/100mg de PF** par rapport à celle du site 1 qui est de : **19,02µg/100mg de PF**.

L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative entre les teneurs des protéines totales chez les échantillons transplantés au niveau du (site 4) avec ($p>0,05$) comparativement aux témoins, alors que des différences très hautement significatives ont été révélés pour les échantillons transplantés au niveau des autres sites (1, 2,3 et 5) avec ($P < 0,001$).

3.1.3. Variations des teneurs en sucres totaux

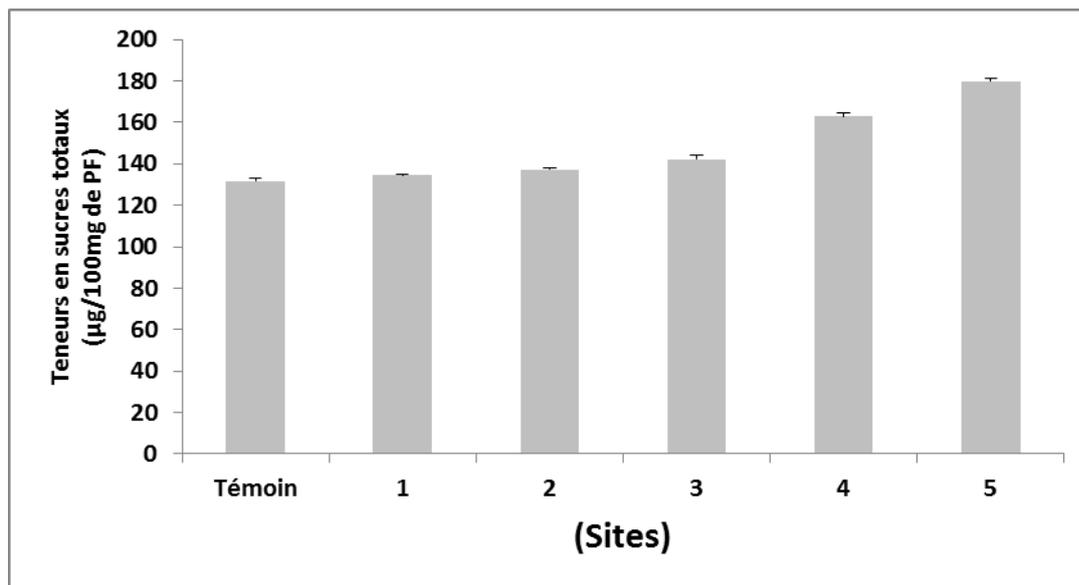


Figure 59. Variations des teneurs des sucres totaux chez *Ramalina farinacea* au niveau des différents sites (Année 2008)

La figure (59) met en évidence les variations des teneurs en sucres totaux chez *Ramalina farinacea* en fonction des sites de transplantation, nous constatons que chez les échantillons transplantés au niveau des sites choisis vers le plus éloigné de la source polluante, le taux des sucres totaux tend à augmenter de manière site-dépendante. La valeur la plus élevée est enregistrée au niveau du site 5 soit : **179,91µg/100mg de PF** par rapport à celle du site témoin qui est de : **131,7µg/100mg de PF**. L'analyse statistique révèle des différences significatives entre la teneur des sucres totaux chez les échantillons témoins et les échantillons transplantés au niveau du (site 1) avec ($p < 0,05$), alors que des différences hautement significatives ont été révélés pour les échantillons transplantés au niveau du (site 2) avec ($p < 0,01$). Alors que pour les autres sites (3, 4 et 5), les différences sont très hautement significatives avec ($P < 0,001$).

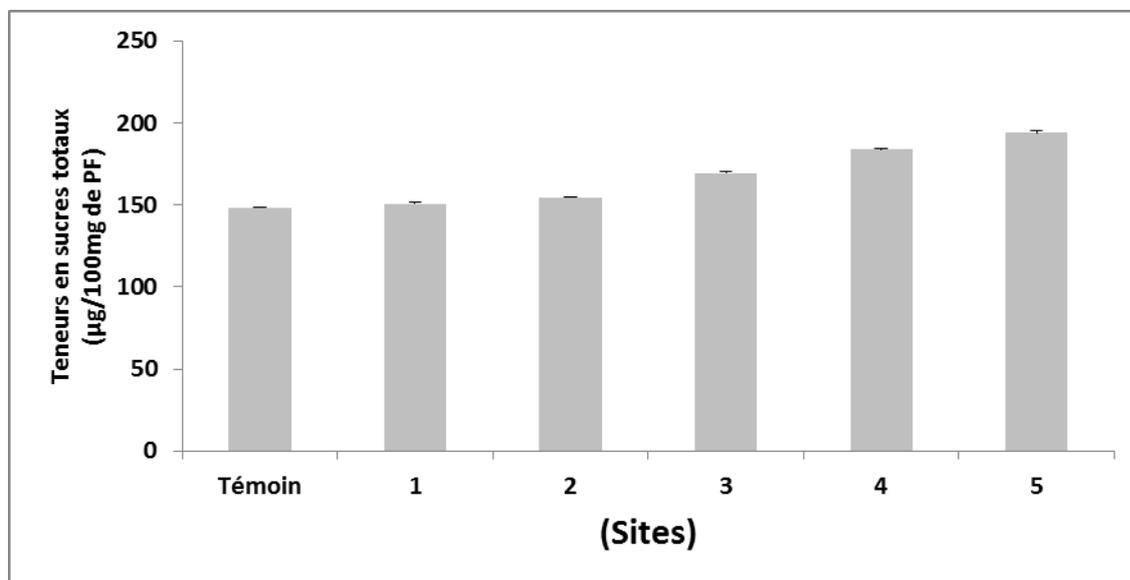


Figure 60. Variations des teneurs des sucres totaux chez *Ramalina farinacea* au niveau des différents sites (Année 2009).

La figure (60) met en évidence les variations des teneurs en sucres totaux chez *Ramalina farinacea* en fonction des sites de transplantation, nous constatons que chez les échantillons transplantés au niveau des sites choisis vers le plus éloigné de la source polluante, le taux des sucres totaux tend à augmenter de manière site-dépendante. La valeur la plus élevée est enregistrée au niveau du site 5 soit : **193,99 µg/100mg de PF** par rapport à celle du site témoin qui est de : **148,32 µg/100mg de PF**.

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives des échantillons transplantés au niveau des 4 sites (2, 3, 4 et 5) comparativement au témoin avec ($p < 0,001$). Cependant, des différences non significatives ont été révélées entre les témoins et les échantillons du site 1 avec ($p > 0,05$).

3.1.4. Variations du taux MF/MS

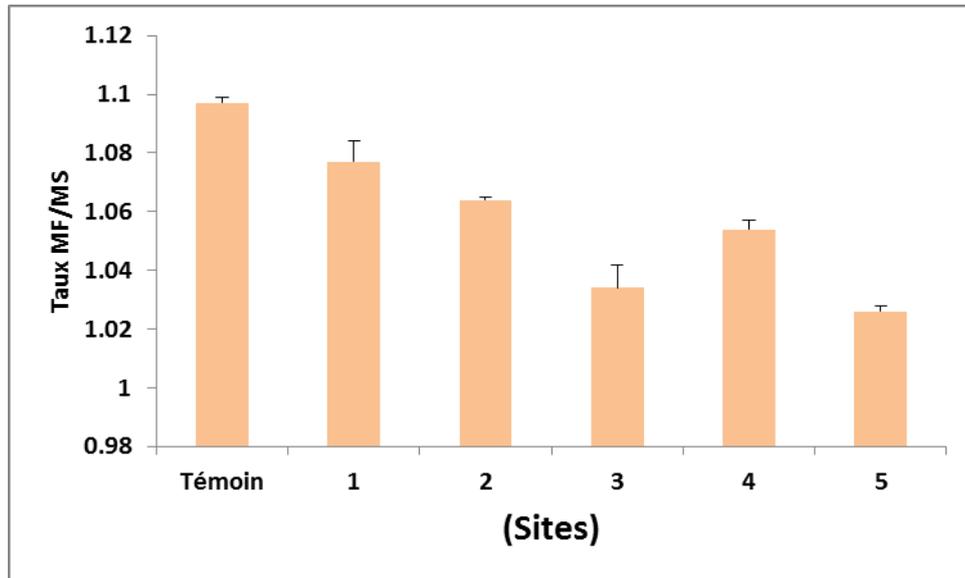


Figure 61. Variations du taux MF/MS chez *Ramalina farinacea* au niveau des différents sites (Année 2008).

La figure (61) met en évidence :

- ✓ Le rapport MF/MS , au niveau des 5 sites, est faible comparativement au témoin.
- ✓ Le rapport MF/MS au niveau du site 1 est proche du témoin soit de (1,097) et (1,077).
- ✓ Les échantillons du site 3 (1,034) et 5(1,026) présentent un taux de MF/MS plus faible par rapport à celui enregistré chez l'échantillon du site 4 (1,054).
- ✓ L'échantillon du site 5 enregistre une baisse très nette(1,026) par rapport au témoin (1,097).

L'analyse statistique révèle des différences hautement significatives des échantillons transplantés au niveau du site 1 comparativement au témoin avec ($p < 0,01$). Cependant, ces différences sont très hautement significatives entre les témoins et les échantillons des sites (2,3,4 et 5) avec ($P < 0,001$).

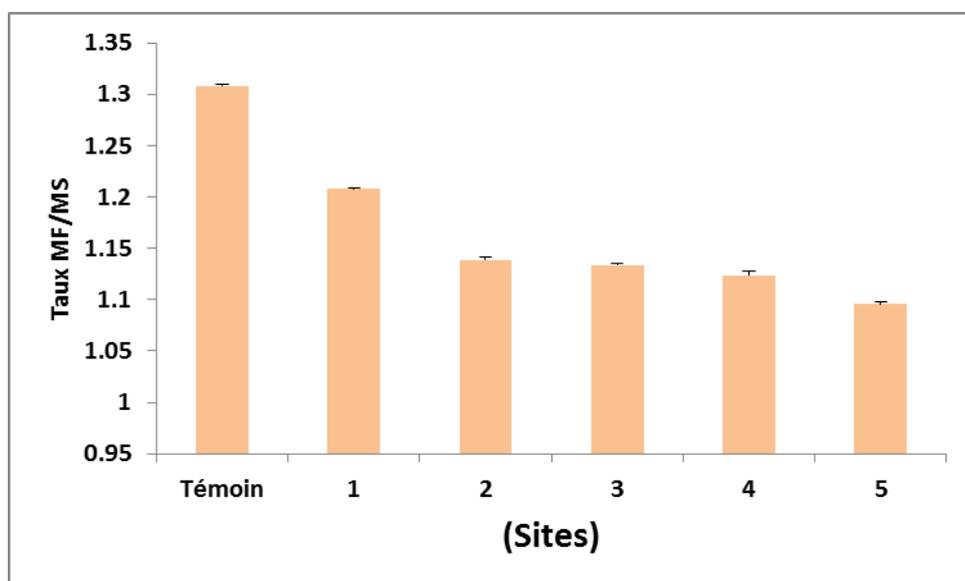


Figure 62. Variations du taux MF/MS chez *Ramalina farinacea* au niveau des différents sites (Année 2009).

La figure (62), représente :

- ✓ Un rapport MF/MS ,au niveau des 5, sites faible par rapport à celui du témoin.
- ✓ Un rapport MF/MS au niveau du site 1, proche du témoin (**1,308±0,002**) et (**1,208±0,001**).
- ✓ L'échantillon du site 5 enregistre une baisse très nette par rapport au témoin, (**1,096±0,002**).

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre le taux MF/MS chez les témoins et les échantillons transplantés au niveau des 5 sites ($P < 0,001$).

3.1.5. Variations du taux de GSH

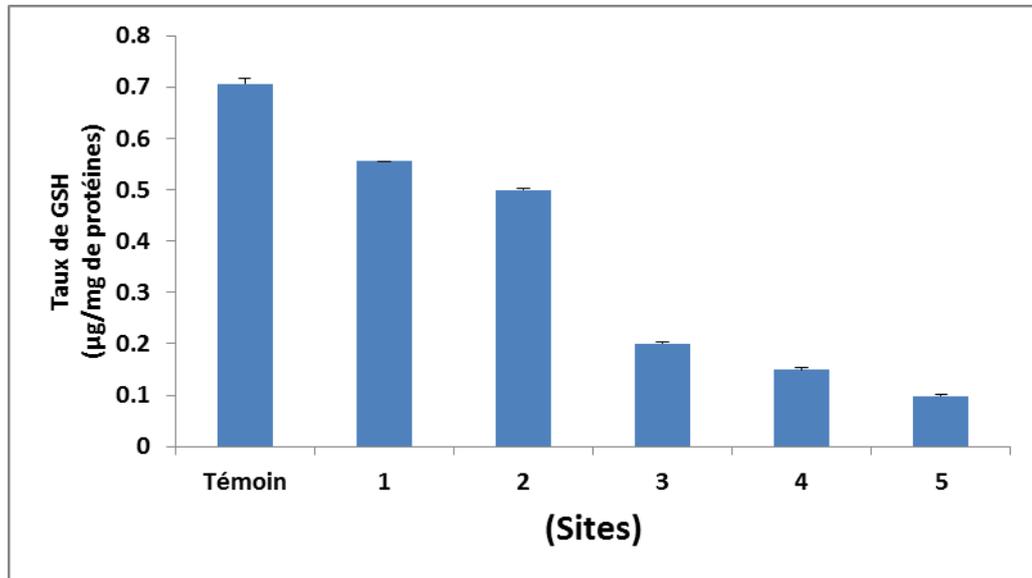


Figure 63. Variations du taux de GSH chez *Ramalina farinacea* au niveau des différents sites (Année 2008).

La figure (63) illustre les variations du taux de GSH au niveau des 5 sites choisis où l'on puisse constater une diminution du taux de GSH des échantillons transplantés au niveau des 5 sites comparativement au témoin .Le site 5 présente le taux le plus faible soit :(**0,099µM/mg de protéines**) par rapport au témoin qui est :(**0,706 µM/mg de protéines**) .

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives du taux de GSH entre les échantillons témoins et les échantillons transplantés au niveau des 5 sites ($p < 0,001$).

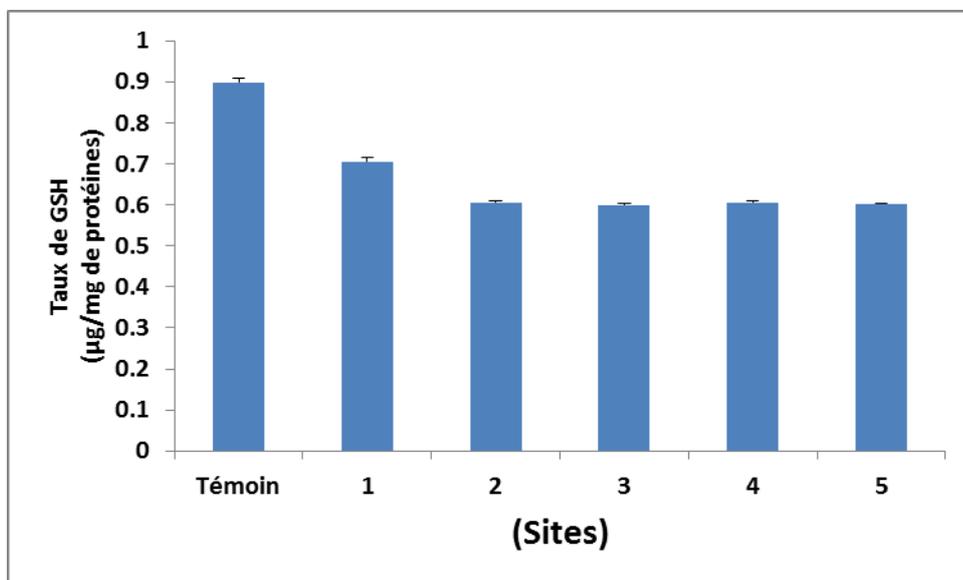


Figure 64. Variations du taux de GSH chez *Ramalina farinacea* au niveau des différents sites (Année 2009).

La Figure (64), illustre les variations du taux de GSH au niveau des 5 sites choisis. Ainsi en présence du polluant atmosphérique, le taux de GSH des échantillons transplantés au niveau des 5 sites diminue comparativement au témoin (**0,602µM/mg de protéines** (site 5)). L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives du taux de GSH entre les échantillons témoins et les échantillons transplantés au niveau des 5 sites ($p < 0,001$).

3.1.6. Variations de l'activité GST

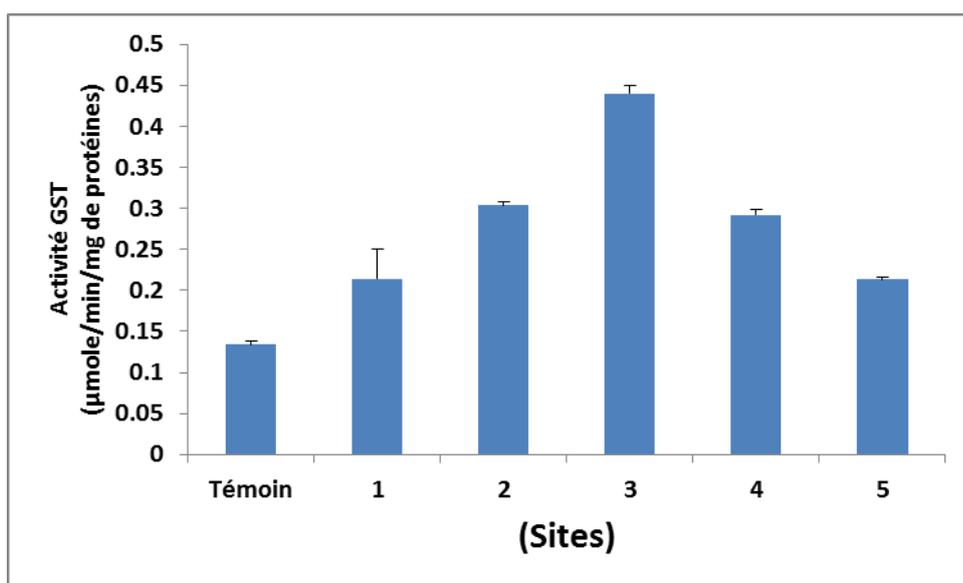


Figure 65. Variations de l'activité de GST chez *Ramalina farinacea* au niveau des différents sites (Année 2008)

La Figure (65), illustre les variations de l'activité de GST au niveau des 5 sites choisis. Ainsi en présence du polluant atmosphérique, cette activité augmente chez les échantillons du site 3 comparativement au témoin. Au niveau des sites (4 et 5), on constate une baisse de cette activité ($0,292$ et $0,213 \times 10^{-4} \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) comparativement au site 3 qui est : ($0,44 \times 10^{-4} \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les témoins et les échantillons transplantés au niveau des 5 sites ($p < 0,001$).

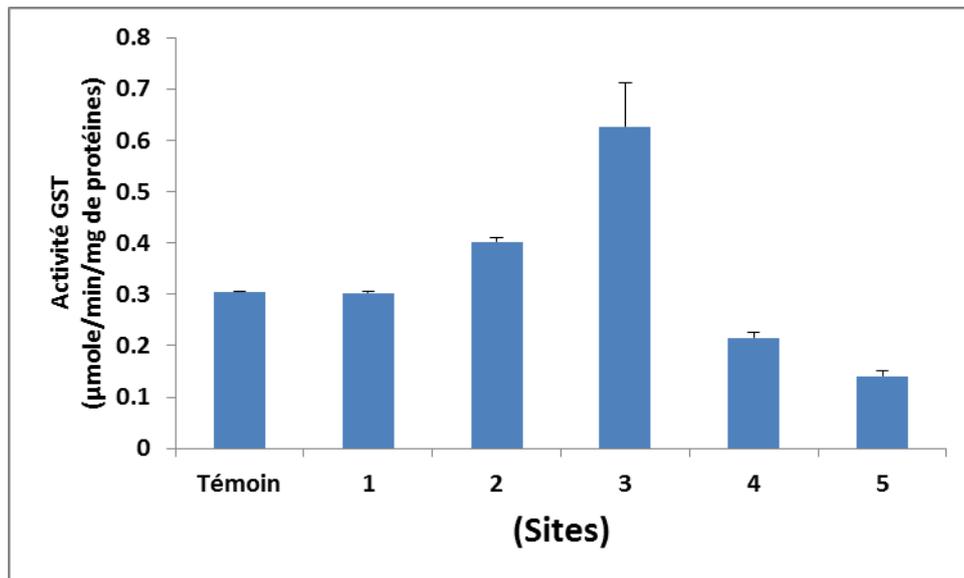


Figure 66. Variations de l'activité de GST chez *Ramalina farinacea* au niveau des différents sites (Année 2009)

La Figure (66) représente, les variations de l'activité de GST au niveau des 5 sites choisis. Nos résultats montrent que, l'activité de la GST des échantillons transplantés au niveau des différents sites augmente comparativement au témoin. On constate aussi une nette diminution de cette activité au niveau du site 4 et 5 par rapport au témoin ($0,216$ et $0,14 \times 10^{-4} \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les témoins et les échantillons transplantés au niveau des sites 2,4 et 5 ($p < 0,001$). Tandis que des différences significative sont enregistrées au niveau du site 1 ($p < 0,05$) et des différences hautement significatives pour les échantillons du site 3 ($p < 0,01$) par rapport au témoin.

3.1.7. Variations des teneurs en chlorophylles (*a*, *b* et *a+b*)

Tableau 11. Variations de la teneur en chlorophylle (*a*, *b*, *a+b*) chez *Ramalina Farinacea* au niveau des 5 sites (Année 2008).

Sites	Chl. <i>a</i> (mg g ⁻¹ de PF)	Chl. <i>b</i> (mg g ⁻¹ de PF)	Chl. <i>a+b</i> (mg g ⁻¹ de PF)
Témoin	1,77±1,2	3,40±0,20	5,17±0,31
1	4,75±0,23	4,85±0,93(*)	9,60±0,46
2	4,20±0,34	6,31±0,44 (**)	10,56±1,18
3	2,24±0,10	9,6±0,12	12,90±0,03
4	4,3±1,11(**)	7,2±1,90(*)	12,1±0,3
5	4,40±0,2	6,15±0,37(**)	10,60±0,96
ANOVA	P≤0,001	P≤0,001	P≤0,001

➤ Chlorophylle *a*:

Les teneurs de la **chl a** enregistrent certaines fluctuations (Tab 11), néanmoins nous constatons que les teneurs les plus faibles sont enregistrés au niveau du site 3 (**1200m**) par rapport au témoin .

➤ Chlorophylle *b*:

Le site témoin présente la teneur en **chl b** la moins élevée (**3,40±0,20mg/g de PF**). Nous remarquons que le site 1 enregistre des teneurs proches à celles du témoin soit : **4,85±0,93mg /g de PF**.

Les autres sites enregistrent des teneurs plus élevées, avec un maximum de ces teneurs au niveau du site 3 : (**9,6±0,12mg/g de PF**), on constate aussi une diminution du taux de (chl *b*) au niveau du site 5 soit : **6,15±0,37mg/g de PF**.

➤ Chlorophylle (*a+b*):

Les teneurs de la chlorophylle (*a+b*) augmentent au niveau de tous les sites par rapport au témoin qui présente la teneur la moins élevée (**5,17±0,31mg/g de PF**). Le site 3 enregistre la teneur maximale ,soit : (**12,90±0,03mg/g de PF**).

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des différents sites, et ceux pour la **chl a+b** et aussi pour la **chl a** du site 1,2,3 et 5 et la **chl b** du site 3 ,avec (P<0,001). Cependant , des différences hautement significatives ont été enregistrées pour la **chl a** du site 4 et **chl b** du site 2 et 5 avec (p<0,01).L'analyse statistique révèle aussi des différences significatives de la **chl b** chez les échantillons du site 1 et 4 (p<0,05).

Tableau 12. Variations de la teneur en chlorophylle (a, b, a+b) chez *Ramalina Farinacea* au niveau des 5 sites (Année 2009).

Sites	Chl. a (mg g ⁻¹ de PF)	Chl. b (mg g ⁻¹ de PF)	Chl. a+b (mg g ⁻¹ de PF)
Témoin	3,62±0,07	3,68±0,06	7,27±0,01
1	4,90±0,13	4,79±0,09	9,66±0,04
2	6,18±0,24	5,43±2,44 (NS)	11,56±2,18(**)
3	6,80±0,15	10,16±0,14	16,90±0,02
4	5,46±0,06	10,12±1,10	14,91±0,36
5	5,14±0,3	9,07±0,57	14,16±0,26
ANOVA	P≤0,001	P≤0,001	P≤0,001

➤ **Chlorophylle a:**

Les teneurs en **chl a** enregistrent certaines fluctuations, la teneur la moins élevée est enregistrée au niveau du site témoin : **3,62±0,07mg/g de PF**. Nous constatons que les teneurs les plus élevées sont enregistrés au niveau des sites : **2 (800m) :6,18±0,24mg/g de PF** et **site 3 (1200m) : 6,80±0,15mg/g de PF**.

➤ **Chlorophylle b:**

Les sites **1** et **2** enregistrent des teneurs proches du témoin, soit respectivement: **3,68±0,06**, **4,79±0,09** et **5,43±2,44mg /g de PF**.

Les autres sites enregistrent des teneurs plus élevées, avec un maximum au niveau du site **3 (10,16±0,14 mg/g de PF)**, on constate aussi une diminution de la teneur en **chl b** au niveau du site **5** soit : **9,07±0,57mg/g de PF**.

➤ **Chlorophylle a+b:**

Les teneurs en chlorophylle **a+b** augmentent au niveau de tous les sites par rapport au témoin qui présentent la teneur la moins élevée (**7,27±0,01 mg/g de PF**).

La teneur en **chl a+b** est maximale est (**16,90±0,02mg/g de PF mg/g**) au niveau du site 3.

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des différents sites et concernant la (**chl a, b et a+b**) (P<0,001).Cependant, la **chl b** du site 2 enregistre des différences non significatives par rapport au témoin (p>0,05). La **chl a+b** du même site présente des différences significatives (p<0,05).

3.2. Effets de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des lichens transplantés

La figure (67) illustre l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des lichens après la transplantation, où l'on remarque une libération d'O₂ dans le milieu pour les échantillons des 5 sites choisis.

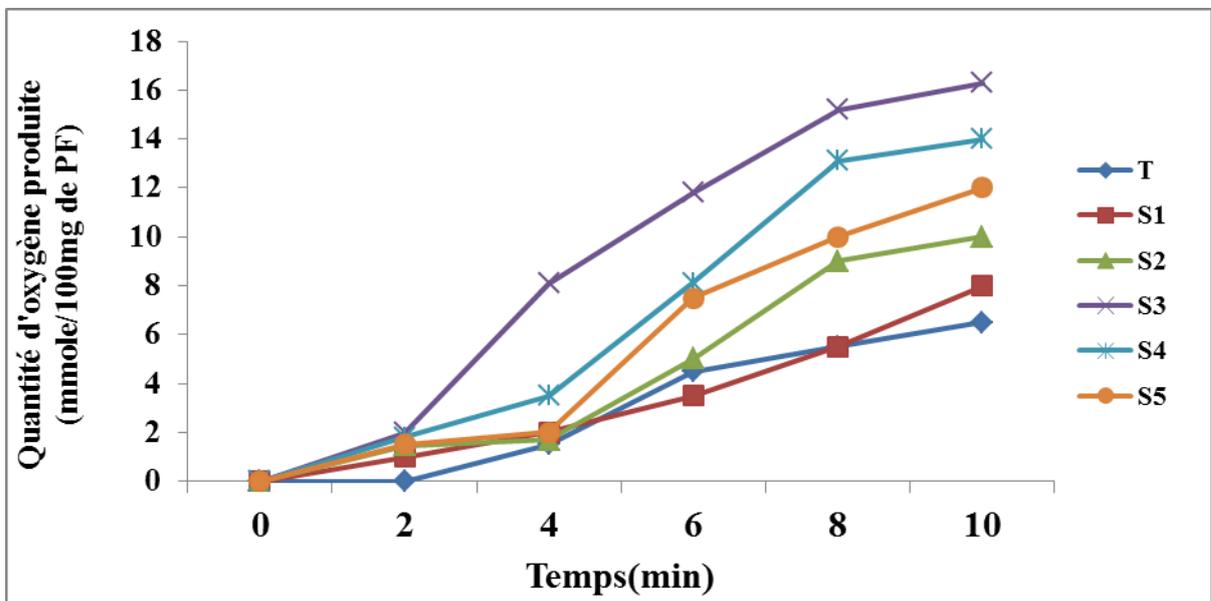


Figure 67. Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des lichens transplantés en 2008 .

Cette figure présente une nette augmentation de la quantité d'O₂ produite dans le milieu, dès la 2^{ème} minute d'enregistrement pour les échantillons transplantés au niveau des 5 sites.

La quantité maximale d'oxygène produite est enregistré à 10min pour l'échantillon du site 3 qui atteint : **16.30nmole d'O₂/100mg de PF.**

L'échantillon témoin présente la quantité d'oxygène produite la moins élevée jusqu'au temps 10 min , contrairement à 6min , cette quantité était plus élevée par rapport à l'échantillon du site 1 .

L'analyse statistique a révélé des différences très hautement significatives entre la photosynthèse des échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 5 sites choisis (p<0.001).

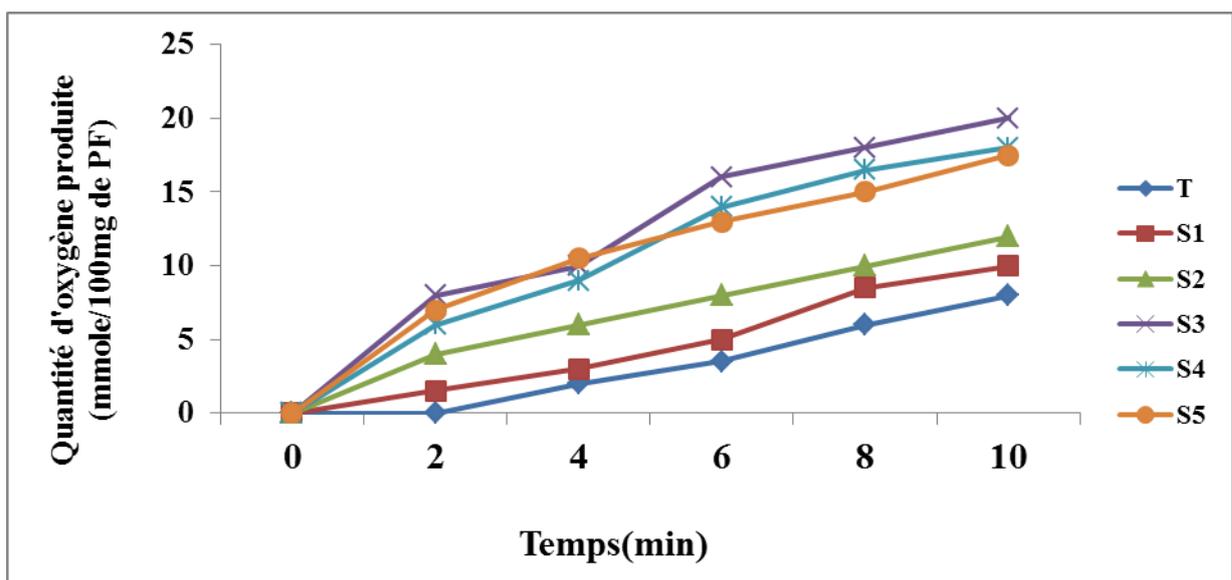


Figure 68. Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des lichens transplantés en 2009 .

La figure (68) illustre l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des lichens, après la transplantation, on observe une nette augmentation de la quantité d'O₂ produite dans le milieu dès la 2^{ème} minute d'enregistrement pour les échantillons transplantés au niveau des 5 sites.

Le maximum de cette quantité a été enregistré à 10min pour l'échantillon du site 3 qui atteint : **20 nmole d'O₂/100mg de PF.**

On constate aussi que les quantités d'oxygène produites enregistrées chez les échantillons des deux sites 4 et 5 finissent par se joindre après 10min d'enregistrement, contrairement aux échantillons des autres sites.

L'échantillon témoin présente la quantité d'oxygène produite la moins élevée jusqu'à 10 min. L'analyse statistique a révélé des différences très hautement significatives entre la photosynthèse des échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 5 sites choisis ($p < 0.001$).

3.3. Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des lichens transplantés

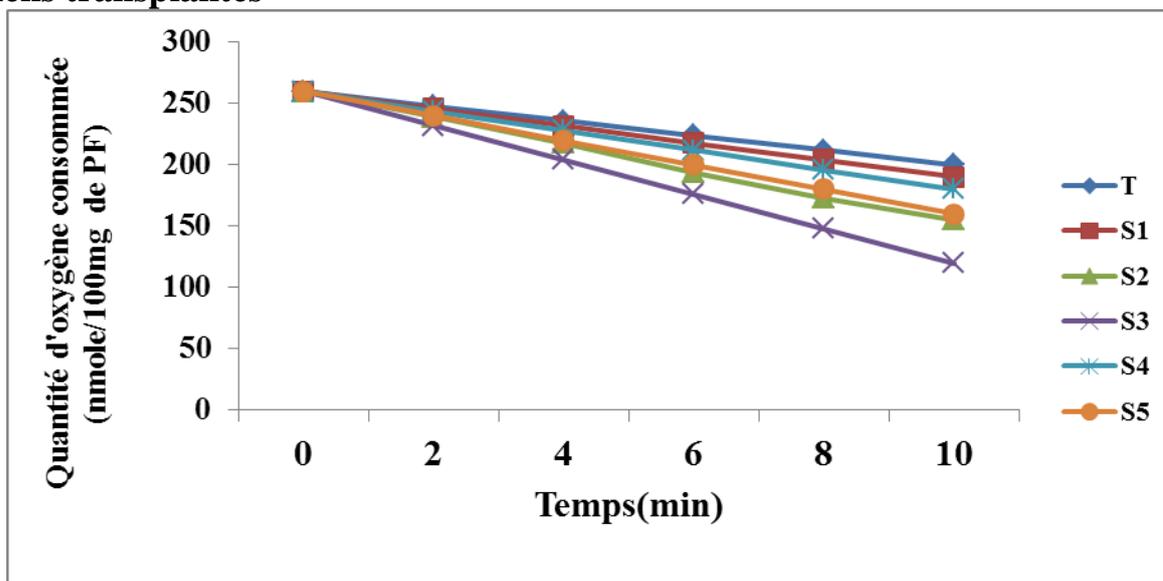


Figure 69. Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des lichens transplantés en 2008.

Cette figure représente l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des lichens, où l'on constate que toutes les courbes commencent à partir d'un même point environ **260 nmole d'O₂**. Chez les lichens considérés comme témoin, la vitesse d'oxydation est de **6 nmole d'O₂/min**.

La transplantation des échantillons au niveau des 5 sites, provoquent une accélération de la vitesse d'oxydation soit : **14 nmole d'O₂/min** au niveau du site 3.

Les autres sites (1,2,4 et 5), présentent des vitesses d'oxydation très proches et sont toutes supérieures à celles des lichens témoins, sont respectivement : **7 ; 10.5 ; 8 et 10 nmole d'O₂/min**.

L'analyse statistique a révélé des différences très hautement significatives entre la respiration des échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 5 sites choisis ($p < 0.001$).

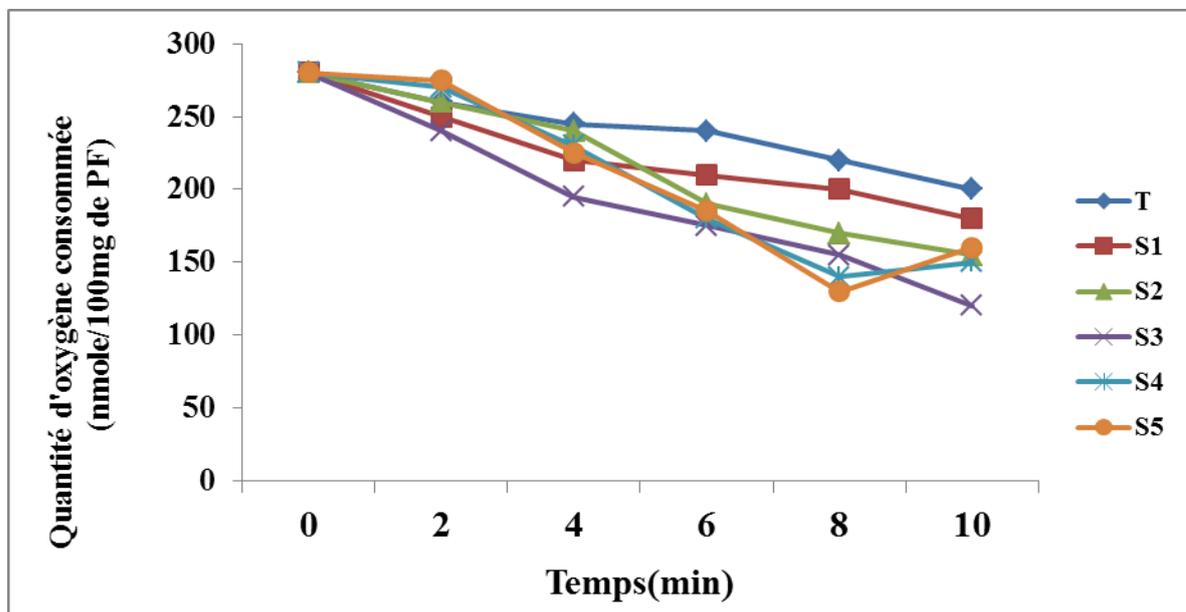


Figure 70. *Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des lichens transplantés en 2009.*

La figure (70) illustre l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des lichens après leur transplantation au niveau des différents sites choisis où l'on remarque une forte consommation d'O₂ pour ces échantillons par rapport au témoin, d'où une stimulation de la respiration.

Nous pouvons souligner que les échantillons témoins présentent une intensité respiratoire tout à fait normale avec une consommation d'O₂ proportionnelle au temps de mesure, la vitesse d'oxydation est : **8 nmole d'O₂/min**. Cette dernière est plus élevée chez les échantillons de tous les sites soit : **10 nmole d'O₂/min (site1)**, **12.5 nmole d'O₂/min (site2)**, **12 nmole d'O₂/min (site 5)** et **13 nmole d'O₂/min (site4)**. Les échantillons du site 3 présentent la vitesse d'oxydation maximale de **16 nmole d'O₂/min**.

L'analyse statistique a révélé des différences très hautement significatives entre la respiration des échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 5 sites choisis ($p < 0.001$).

Les deux espèces de lichens : *Ramalina farinacea* et *Xanthoria parietina* ont été transplantées ensemble aux sites :1, 2, 3 et 4.

La transplantation des deux espèces, effectuée dans la région de Annaba permet de définir précisément l'impact de la pollution atmosphérique sur les lichens.

Des dosages physiologiques et biochimiques étalés sur des périodes courtes sont cependant nécessaires pour affiner les résultats.

1.1. Durée de transplantation

Dans cette partie expérimentale, la première transplantation a été effectuée à deux temps : le 22 Mars et le 21 Avril 2008, sur les 5 sites. La durée maximale de transplantation n'a pas dépassé 1mois : le premier prélèvement a lieu le jour de la transplantation suivante, et pour cette dernière le prélèvement a été effectué le 22 Mai 2008.

La deuxième transplantation a été réalisée dans les mêmes périodes mais pendant l'année 2009.

Les thalles transplantés des deux espèces lichéniques ont toujours été prélevés le même jour pour chaque site et des échantillons témoins ont été récoltés sur les sites de prélèvement le même jour que les lichens transplantés.

1.2. Le réseau de surveillance de l'air de la ville de Annaba « SAMA SAFIA »

A la fin du premier semestre 2002, la wilaya de Annaba s'est dotée d'un réseau de surveillance de qualité de l'air. Il permet la connaissance avec précision de la qualité de l'air et les concentrations des principaux polluants dans l'atmosphère, toutes les quinze minutes.

Les différents polluants mesurés sont :le dioxyde d'azote, le monoxyde d'azote, l'oxyde d'azote, le monoxyde de carbone, les poussières (particules inférieurs à 10 microns),le dioxyde de soufre, l'ozone et les BTX (benzène, toluène, paraxylène),ainsi que les paramètres météorologiques (température, humidité, direction et vitesse des vents).

Ce réseau est composé de quatre stations réparties ainsi :

-01 station de référence installée à l'aéroport d'Annaba, les salines.

-02 station de forte pollution : une à El-Bouni installée au centre de santé et l'autre à Sidi Amar, installée à l'université de Annaba.

-03 station urbaine : installée au centre de santé près de la wilaya de Annaba.

(Source : SAMASAFIA Annaba, 2005).

1.2.1. Localisation des stations de mesure

***Station 01 (station de type de référence-Aéroport les salines Rabah Betat de Annaba) :**

L'emplacement de cette station dans un endroit dégagé à proximité de la station météorologique, correspond à un objectif de surveillance de la pollution atmosphérique de « fond »notamment photochimique (ozone), dans des zones étendues à faible densité de population. Avec double baie de mesure composée de différents analyseurs destinés à la mesure du benzène, toluène, xylène, des oxydes d'azote, des hydrocarbures totaux, du monoxyde de carbone, de l'ozone et des particules en suspension (poussières).

***Stations 02 et 03 (stations de type forte pollution, El Bouni - Sidi Amar) :**

Les emplacements choisis pour ces stations, à savoir les concentrations urbaines d'El Bouni et Sidi Amar, correspondent à un objectif d'évaluation de la pollution atmosphérique résultant de phénomènes de panache ou d'accumulation, à proximité de sources industrielles, notamment les complexes sidérurgique d'El Hadjar (ARCELOR MEETAL) et le complexe des engrais

phosphato-azotés (**FERTIAL**). Avec double baie de mesure composée de différents analyseurs destinés à la mesure du dioxyde de soufre, des oxydes d'azote, des hydrocarbures totaux, du monoxyde de carbone, de l'ozone et des particules en suspension (poussières).

***Station 04 (station de type Base-Centre de santé de Annaba) :**

L'emplacement de la station de type base, choisi au centre-ville de Annaba, correspond à l'objectif d'un suivi du niveau d'exposition moyen de la population aux phénomènes de pollution atmosphérique de « fond ».

Cette station est équipée de double baie de mesure composée de différents analyseurs qui sont destinés à la mesure des oxydes d'azote, des hydrocarbures totaux, du monoxyde de carbone et des particules en suspension (poussières).

(Source : SAMASAFIA Annaba, 2005).

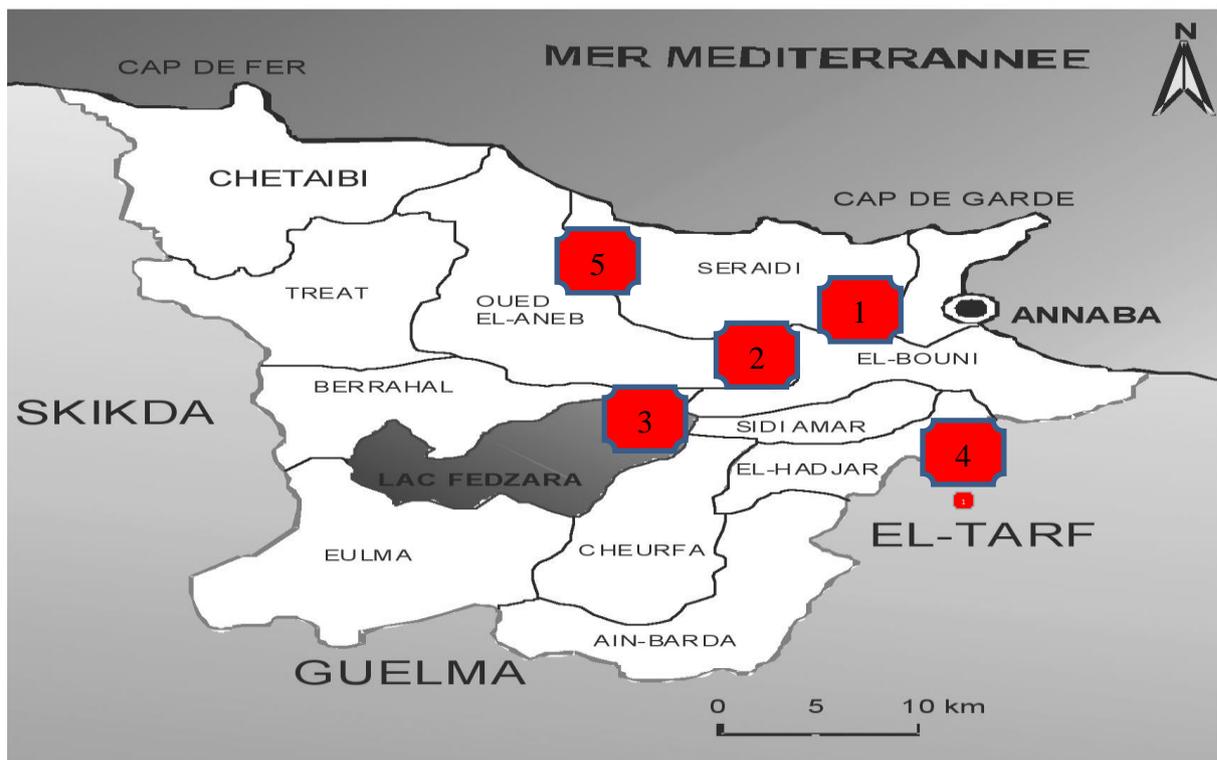


Figure 71 . L'emplacement des stations de mesure du réseau SAMASAFIA
(Source SAMASAFIA Annaba, 2005).

Site (1) : Le centre de santé à ANNABA.

Site (2) : Le centre santé à EL BOUNI, distant de 6 km de ANNABA, près du complexe engrais phosphato-azotés de FERTIAL.

Site (3) : L'université Badji Mokhtar de ANNABA située à SIDI AMAR, à 12 km de ANNABA près du complexe sidérurgique d'EL HADJAR « ARCOLOR-MEETAL ».

Site (4) : L'aéroport international « les salines Rabah Bittat » de ANNABA, situé à 10 km de la ville.

Site (5) : Le site témoin situé à SERAI DI, à 850m d'altitude et considérée comme une région non polluée.

1.2.2. Les objectifs du réseau SAMASAFIA

Le réseau a pour objectifs de :

- ✓ Surveiller en continu la qualité de l'air ambiant.
- ✓ Connaître la qualité de l'air sur la zone de compétence et son évolution dans le temps.

- ✓ Quantifier l'incidence sur le milieu naturel et urbain.
- ✓ Vérifier la qualité de l'air par rapport aux valeurs limites de pollution.
- ✓ Prévenir les épisodes de pollution et les périodes critiques après établissement de modèles de dispersion et de comportement des polluants.
- ✓ Prévenir la pollution liée à la circulation automobile après élaboration des documents planificateurs.
- ✓ Informer et sensibiliser la population et les autorités concernées.
- ✓ Servir d'appui à la recherche dans le domaine de la pollution atmosphérique.
- ✓ Participer à la décision des aménagements : point zéro avant l'installation d'une nouvelle unité potentiellement émettrice de polluants. (*Source SAMASAFIA Annaba, 2005*).

1.3. Concentrations des polluants dans l'atmosphère au niveau de 4 stations (2002-2006)

Tableau 13. Concentrations des polluants atmosphériques au niveau des 4 stations
(*Source SAMASAFIA Annaba, 2005*)

Polluants	Concentration ($\mu\text{g} / \text{m}^3$)			
	Site 1	Site 2	Site 3	Site4
SO ₂	-----	18.346	11.745	-----
NO ₂	6.844	3.808	16.794	4.196
NO	7.03	9.90	4.24	1.71
CO	1.15	0.89	0.539	0.10
Nx	9.868	6.202	14.512	3.856
Poussières	62.916	77.400	64.913	31.355

2. Automatisation des contrôles

Divers appareillages ont été mis au point, au cours de ces dernières années, pour le contrôle automatique de la pollution de l'air extérieure. Ils font appel à diverses technologies : spectrométrie, infrarouge (par diodes lasers accordables), absorption UV, fluorescence UV, chimiluminescence, chromatographie gazeuse, appareils DOAS (Differential Optical Absorption Spectrometry) et LIDAR (Light Détection and Ranging) par télédétection, appareil TEOM à balance électromagnétique (Tapered Element Oscillating Microbalance).....etc. Ils permettent de mesurer des polluants tels que : SO₂, NO et NO₂, CO, CO₂, O₃, hydrocarbures : méthaniques, non méthaniques, benzéniques (benzène, toluène, éthylbenzène, xylène), totaux, fumées noires, particules. Certains sont aussi utilisables pour les environnements inférieurs (**Viala et Botta, 2005**).

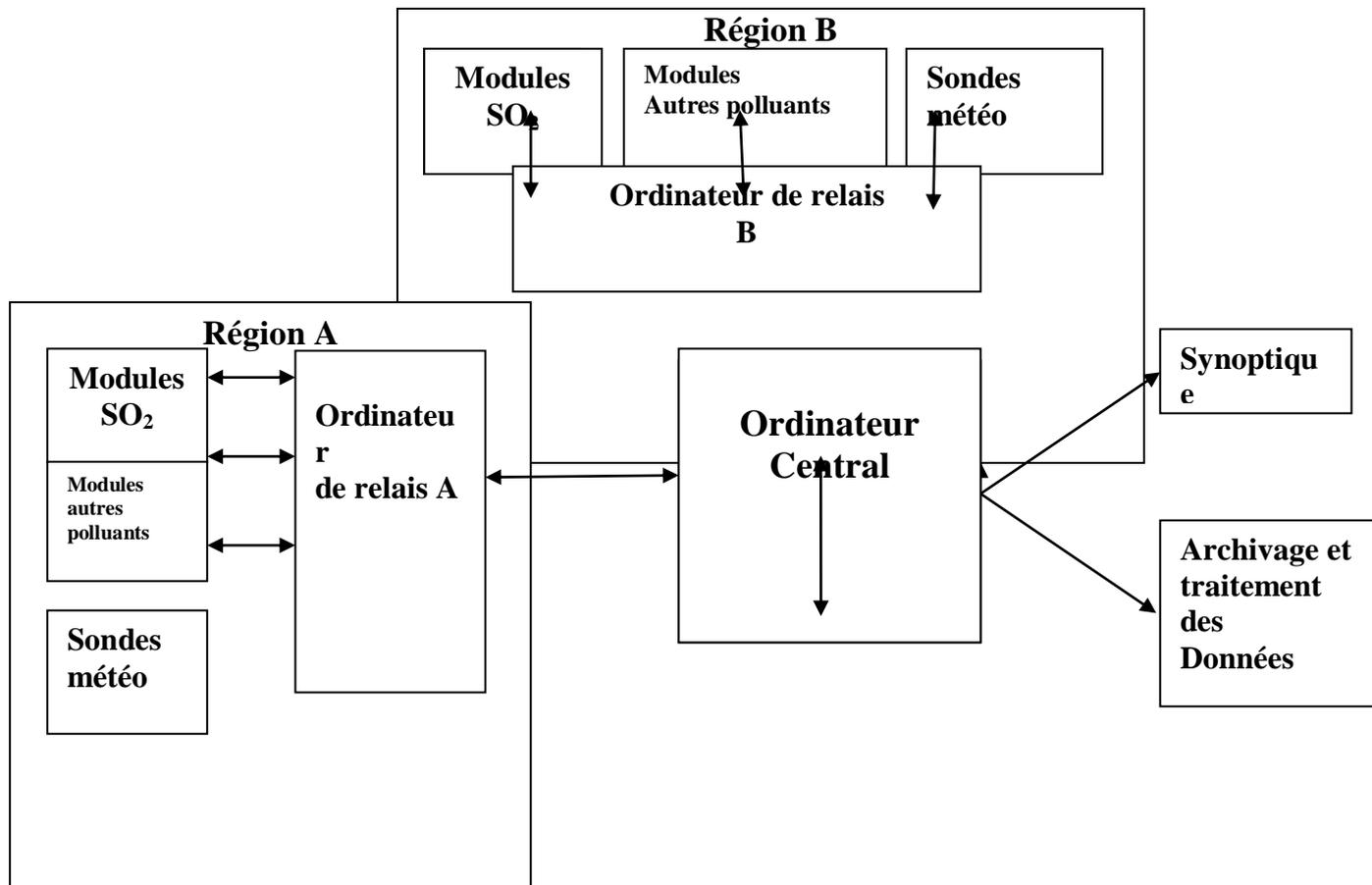


Figure 72. Réseau de contrôle automatique de la pollution atmosphérique (Viala et Botta, 2005)

Cette figure (72) représente le principe de fonctionnement d'un réseau automatique de surveillance de la pollution atmosphérique. Sur chaque site de mesure, sont implantés des appareils automatiques de mesure de polluants et de paramètres météorologiques (direction et vitesse du vents, sondes de température...etc.). Par l'intermédiaire d'un ordinateur de relais, les données chimiques et météorologiques sont transmises toutes les quinze minutes, voire toutes les dix minutes, au moyen de lignes téléphoniques spécialisées ou de liaisons hertziennes à un ordinateur central. Celui-ci les redistribue à un tableau synoptique de la région surveillée pour visualisation en temps réel et un système d'archivage et de traitement des informations.

Ce système permet aussi de prévoir les pointes de pollution et d'envisager la mise en place de moyens de protection où de lutte adéquate. On distingue des stations « de proximité » où les appareils sont proches de sources de pollution et des stations « de fond » représentatives de l'atmosphère urbaine, mais ne subissant pas l'influence de sources proches. Des laboratoires mobiles permettent aussi de mieux appréhender les différents types de pollution de proximité (Viala et Botta, 2005).

3. Stratégie d'échantillonnage

Les échantillons des deux espèces lichéniques : *Ramalina farinacea* et *Xanthoria parietina* ont été prélevés, durant les mois de Mars et Avril des deux années : 2008 et 2009.

Sur le terrain, nous avons détaché les thalles lichéniques qui existent sur les troncs d'arbres à l'aide d'un couteau.

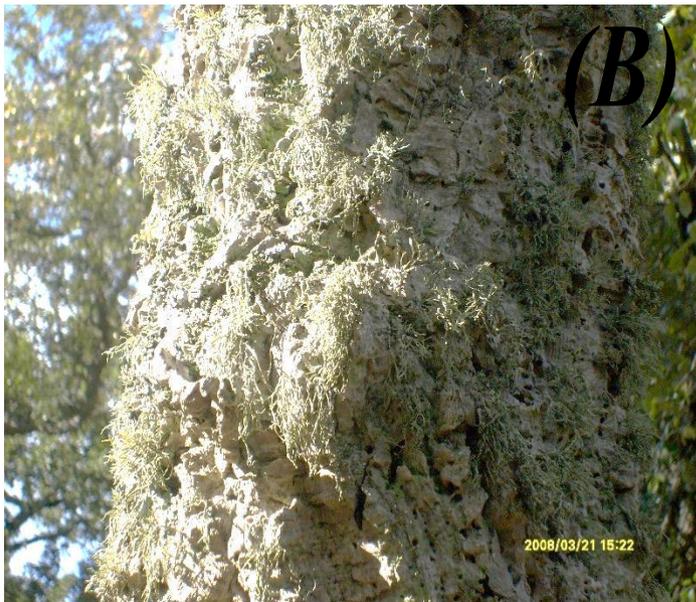
-La région d'échantillonnage de l'espèce *Ramalina farinacea* est caractérisée par l'abondance du chêne-zeen (*Quercus faginea*) et du chêne-liège (*Quercus suber*).

Les thalles de *Ramalina farinacea* sont prélevés de chêne-liège.

- Les familles des arbres porteur des lichens *Xanthoria parietina* sont : (**Oleaceae**, **Salicaceae**), le genre: *Fraxinus*, *Populus*.

Les échantillons sont ensuite conservés dans des sachets en plastique bien fermés, afin de limiter les pertes d'eau par évapotranspiration.

4. Les espèces de lichens choisies



Position systématique

Règne : Fungi.

Classe: Ascomycètes.

Ordre: Lecanorales.

Famille: Ramalinaceae.

Genre: *Ramalina*.

Espèce : *Ramalina farinacea*.

Figure 73 . *Ramalina farinacea*

(A): Vue rapprochée de *Ramalina farinacea* @³

(B): Photo réelle du site d'échantillonnage, Burgas (Taoura).



Position systématique

Règne: Fungi.

Classe: Ascomycete.

Ordre: Téoschistales.

Famille: Téoschistaceae.

Genre: *Xanthoria*

Espèce : *Xanthoria parietina*

(A) : Vue rapprochée de *Xanthoria parietina* @⁵

(B) : Photo réelle du site d'échantillonnage, Burgas (Taoura).

5. Choix du site d'échantillonnage

5.1. Localisation géographique

Notre choix s'est porté sur la région de **Taoura** plus exactement à **Burgas** (situé à **8km** de **Taoura**) car c'est une zone non polluée (altitude **686 m**), dépourvue et éloignée des zones

industrielles (distante de **19Km** du centre de la wilaya de **Souk-Ahras**), ce qui permet l'existence de plusieurs espèces lichéniques.

La commune de **Taoura** est située au Sud-est de **Souk- Ahras** de superficie **302 km²** avec **17322 habitants** .Elle est délimité au Nord par les commune de **Zarouria** et **Merahna**, à l'est par la commune de **Sidi Fredj**, au sud par la willaya de **Tébessa** et l'ouest par la commune **Dréa** (**Commune Taoura,2008**).

5.2. Climat

- Le climat de **Taoura** est marqué par les influences sahariennes.
- Température : un été chaud et sec de **25°C** à **32°C** au Juillet et Août. Un hiver froid et humide de **1°C** à **15°C** au mois de Janvier avec une moyenne de précipitation de l'ordre de **350mm** au Sud.

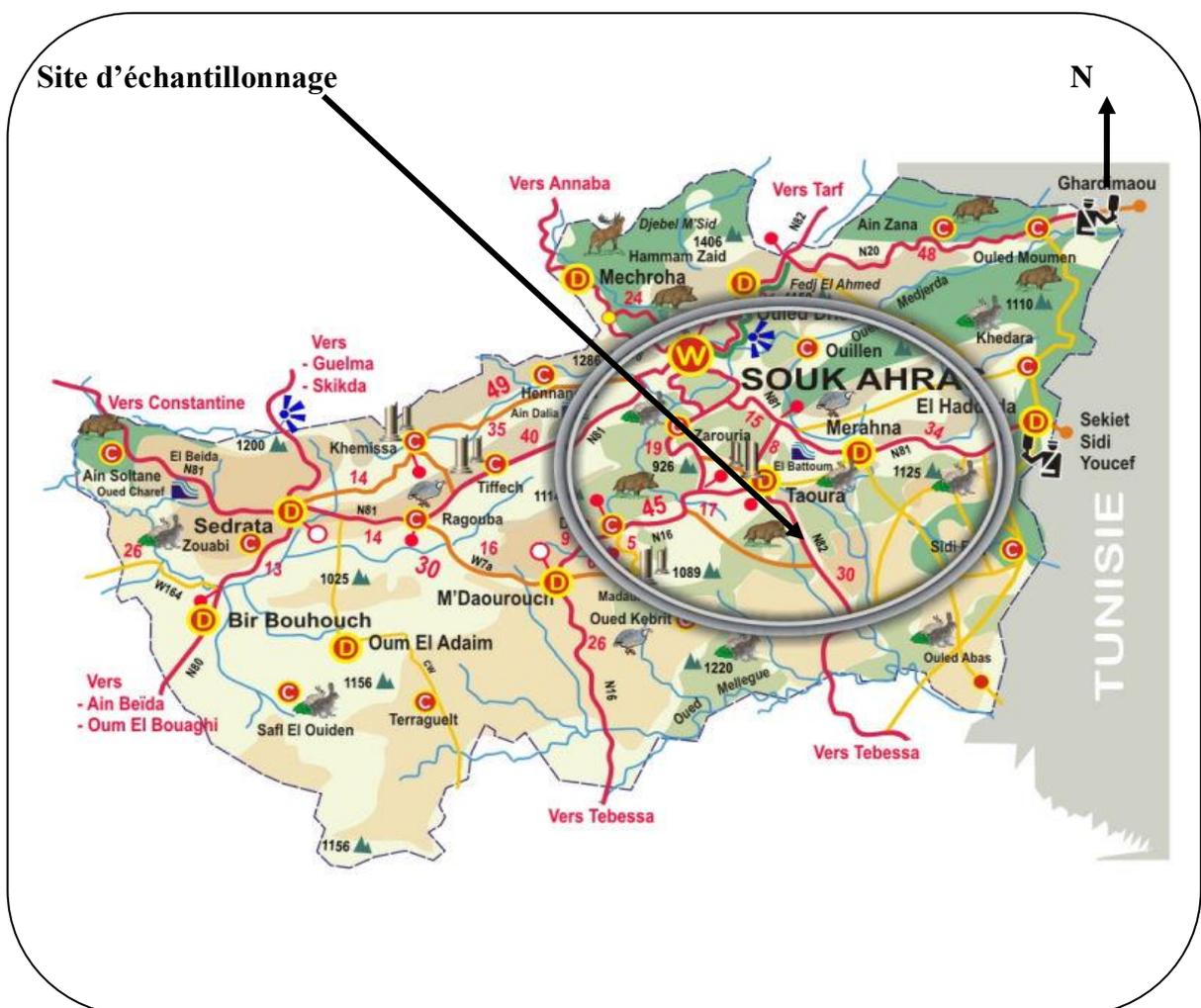


Figure 75.Localisation géographique du site d'échantillonnage « Taoura »^{@6}

6.Choix des lieux de transplantation

Quatre sites de transplantation ont été retenus :

Site (1) : Centre de santé à **El BOUNI** , distant de 6 Km de Annaba, près du complexe des engrais phosphatés de « **FERTIAL** » .

Site (2) : L'université d'Annaba , située à **SIDI AMAR** à 12 Km de Annaba près du complexe sidérurgique d'El Hadjar « **ARCELOR METAL** ».

Site (3) : **El HADJAR**, situé à 10 km de Annaba.

Site (4) : Centre de santé à **Annaba** .

Les sites (1 ,2 et 4) ont été choisis selon les stations du « **SAMASAFIA** » , et le choix du site 3 selon l'implantation du complexe sidérurgique « **ARCELOR MEETAL** » dans cette zone.

7.1. Comparaison des paramètres biochimiques entre les deux espèces lichéniques : *R. farinacea* et *X. parietina*

7.1.1. La proline

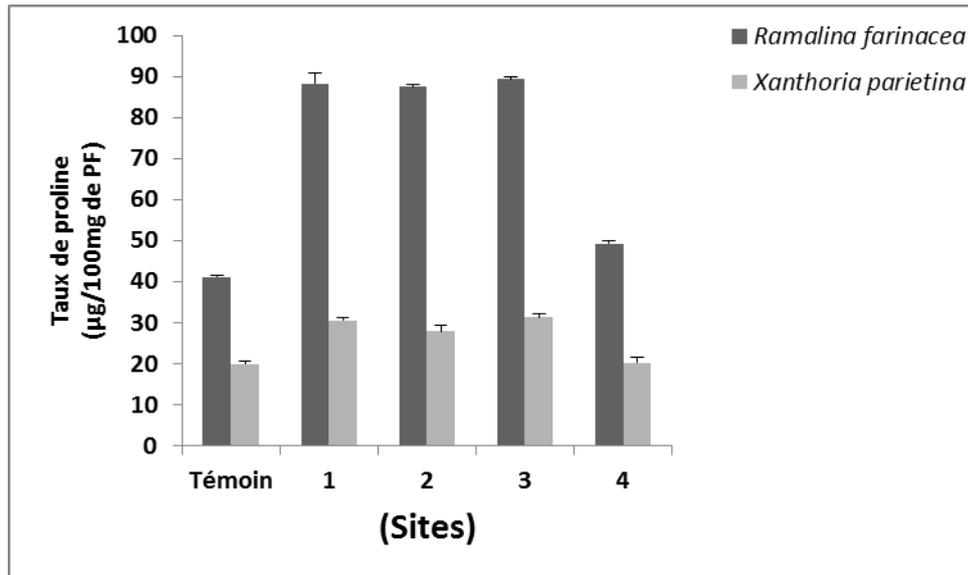


Figure 76. Comparaison du taux de proline chez les deux espèces lichéniques (Année 2008)

Cette Figure (76) illustre les variations du taux de proline, chez les deux espèces lichéniques, au niveau des 5 sites choisis pendant l'année 2008.

L'échantillon témoin de l'espèce *Xanthoria parietina* présente un taux le plus faible en proline (**19,90 µg /100 mg de PF**), alors que les échantillons transplantés au niveau des 4 sites présentent tous, des teneurs plus élevées en proline, avec un maximum enregistré au niveau du site **3 (El-Hadjar)** avec un taux de (**31,33 µg /100 mg de PF**).

Les mêmes observations sont signalées chez l'autre espèce de *Ramalina farinacea*. Le taux le plus faible en proline est enregistré au niveau du site témoin avec un taux de : (**41,19 µg /100 mg de PF**). Par contre, le taux maximal est enregistré au niveau du site **3 (El-Hadjar)** avec un taux de : (**89,41 µg /100 mg de PF**).

Chez les deux espèces lichéniques, l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des sites (1,2 et 3) ($p < 0,001$).

Par contre, l'échantillon *Xanthoria parietina* transplanté au niveau du site 4 présente des différences non significatives ($p > 0,05$).

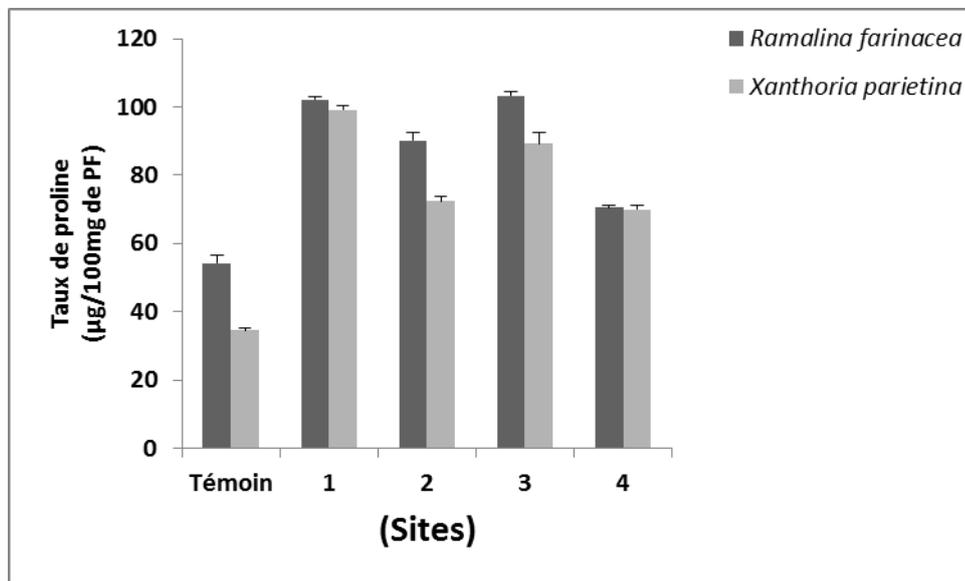


Figure 77. Comparaison du taux de proline chez les deux espèces lichéniques (Année 2009)

La Figure (77), illustre les variations du taux de proline, chez les deux espèces lichéniques, au niveau des 5 sites choisis pendant l'année 2009.

L'échantillon témoin de l'espèce *Xanthoria parietina* présente le taux le plus faible en proline (**34,50 µg /100 µg de PF**), alors que les échantillons transplantés au niveau des 4 sites présentent tous des teneurs plus élevées en proline par rapport au témoin. Le maximum de ce taux est enregistré au niveau du site **3 (El-Hadjar)** de l'espèce *Ramalina farinacea* avec un taux de (**103,20 µg /100 mg de PF**).

Les mêmes observations sont signalées chez l'autre espèce de *Xanthoria parietina*. Des taux plus élevés en proline au niveaux des 4 sites, sont observés par rapport au témoin. Le maximum est enregistré chez le site **1 (El-Bouni)** avec un taux de : (**99,10 µg /100 mg de PF**). Par contre, le taux le plus faible est enregistré au niveau du site témoin avec un taux de : (**34,5 µg /100 mg de PF**).

Chez les deux espèces lichéniques, l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 4 sites ($p < 0,001$).

7.1.2. Protéines totales

Les variations des protéines totales chez les deux espèces lichéniques sont représentées dans les figures (78,79) suivantes :

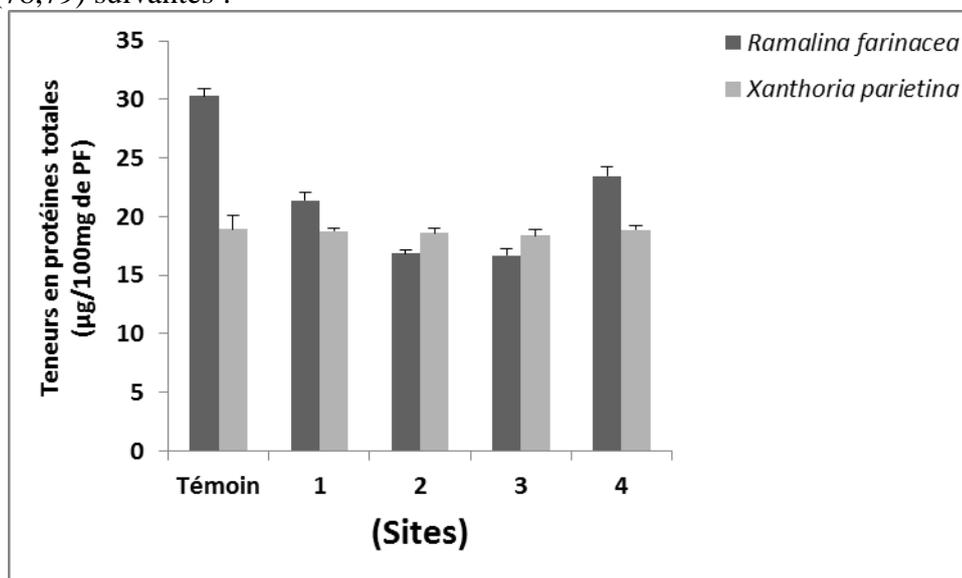


Figure 78. Comparaison des teneurs en protéines totales chez les deux espèces lichéniques (Année 2008)

Nous remarquons que le taux des protéines totales chez les lichens témoins de l'espèce *Ramalina farinacea* est de l'ordre de **(30,27µg/100mg de PF)**.

Après la transplantation, ce taux diminue, en fonction des sites, jusqu'à **(16.68 µg/100mg de PF)** au niveau du site 3 .

En effet, ce taux de protéines chez les lichens témoin de l'autre espèce *Xanthoria parietina* est plus faible, **(18.95 µg/100mg de PF)**. L'exposition des échantillons aux différents sites choisis affecte, légèrement le taux des protéines totales, ce dernier diminue jusqu'à **(18.37±µg/100mg de PF)** au niveau du site 3.

Chez l'espèce *Ramalina farinacea* , l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les témoins et les échantillons transplantés au niveau des quatre sites avec ($p<0,001$).Cependant ,des différences non significatives ont été révélés ,chez l'autre espèce (*Xanthoria parietina*), entre les témoins et les échantillons des 4 sites ($p>0,05$).

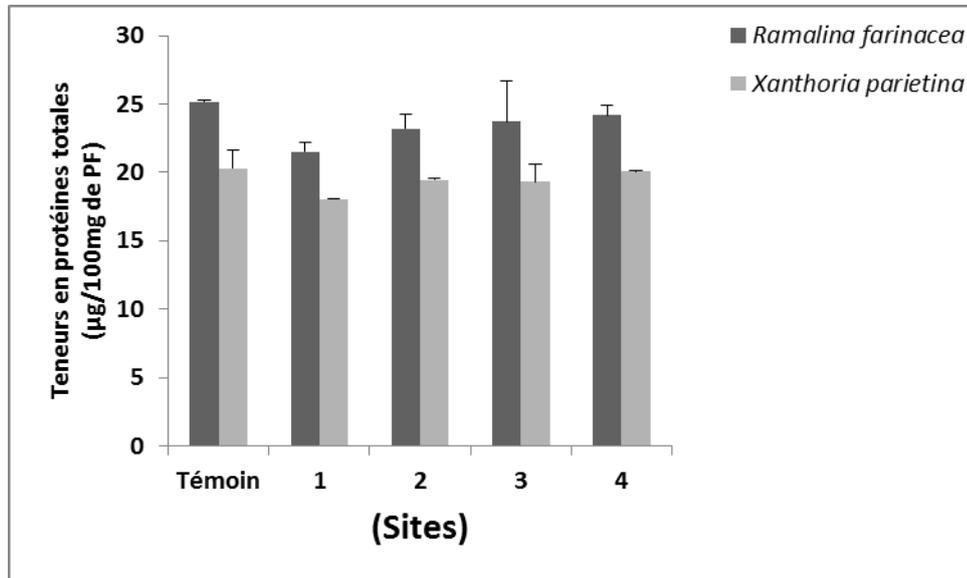


Figure 79. Comparaison des teneurs en protéines totales chez les deux espèces lichéniques (Année 2009)

Nous remarquons que le taux des protéines totales chez les lichens témoins de l'espèce *Ramalina farinacea* est de l'ordre de **(25,17µg/100mg de PF)**.Après la transplantation, ce taux diminue, en fonction des sites, jusqu'à **(21,50µg/100mg de PF)** au niveau du site 1.

En effet, ce taux de protéines totales chez les lichens témoins de l'autre espèce *Xanthoria parietina* est plus faible **(20,30µg/100mg de PF)**. L'exposition des échantillons aux différents sites choisis, affecte légèrement le taux de protéines totales, ce dernier diminue jusqu'à **(18,03µg/100mg de PF)** au niveau du site 1.

Chez l'espèce *Ramalina farinacea* , l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les témoins et les échantillons transplantés au niveau du site 1 ($p<0,001$) et des différences significatives entre les témoins et les échantillons du site 2 ($p<0,05$).Cependant ,des différences non significatives ont été révélés entre les témoins et les échantillons des sites 3 et 4 ($p>0,05$).

Chez l'autre espèce (*Xanthoria parietina*), l'analyse statistique révèle des différences significatives entre les témoins et les échantillons du site 1 ($p<0,05$).Cependant ,des différences non significatives ont été révélés entre les témoins et les échantillons des sites 2, 3 et 4 ($p>0,05$).

7.1.3.Sucres totaux

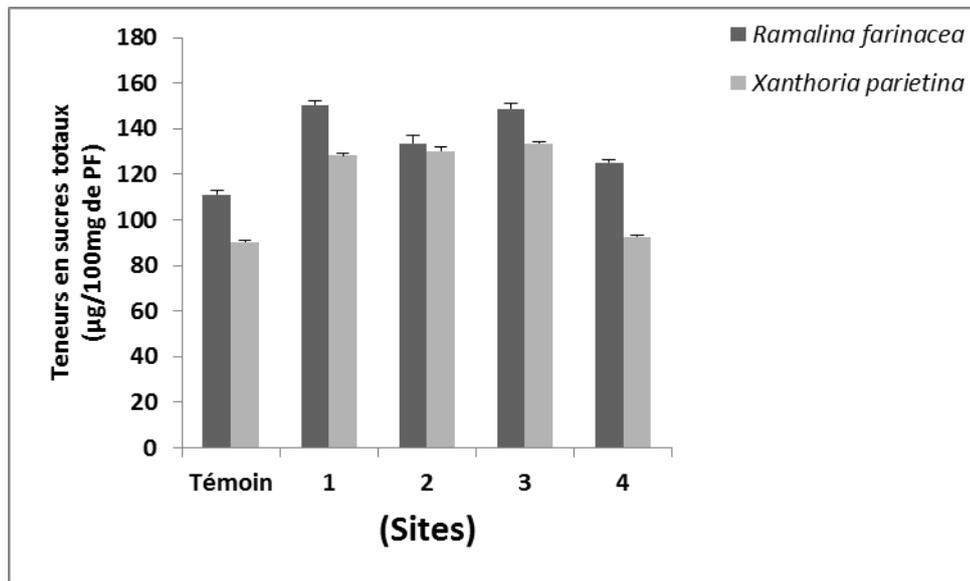


Figure 80. Comparaison des teneurs en sucres totaux chez les deux espèces lichéniques (Année 2008)

La figure (80) ,représente une comparaison des teneurs en sucres totaux chez *Ramalina farinacea* et *Xanthoria parietina* (2008).

Nous constatons, chez ces deux espèces ainsi que chez les échantillons de différents sites,une teneur en sucres totaux plus élevée comparativement au témoin.

Chez les deux espèces, l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les échantillons témoins et les échantillons transplantés au niveau des 4 sites ($p < 0,001$), alors qu'une seule différence significative a été enregistrée au niveau du site 4 de l'espèce *Xanthoria parietina* ($p < 0,05$).

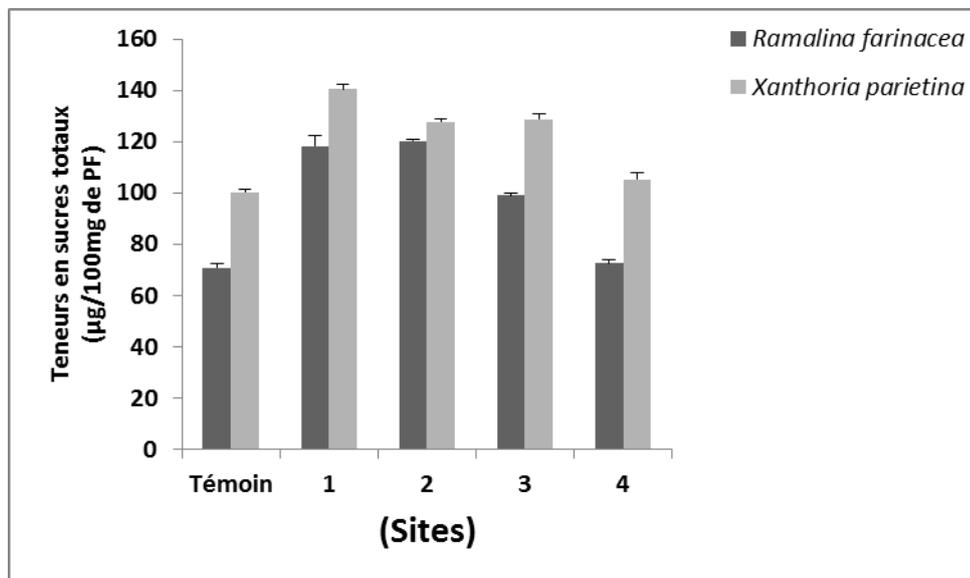


Figure 81. Comparaison des teneurs en sucres totaux chez les deux espèces lichéniques (Année 2009)

La figure (81), illustre les variations du taux des sucres totaux chez les deux espèces lichéniques au niveau des différents sites. Nous constatons que le taux des sucres totaux des échantillons

transplantés au niveau de ces sites, est toujours supérieur à celui du témoin avec un maximum enregistré chez l'espèce *Xanthoria parietina* du site 1 soit (140,50µg /100mg de PF). Chez les deux espèces lichéniques, l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre le taux des sucres totaux chez les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 3 sites (1,2 et 3) avec ($p < 0.001$). Cependant, une différence non significative a été révélée, entre les témoins et les échantillons du site 4 ($p > 0.05$) de l'espèce *Ramalina farinacea*, et une différence significative a été enregistrée entre les témoins et les échantillons du site 4 ($p < 0.05$) de l'espèce *Xanthoria parietina*.

7.1.4. Taux MF/MS

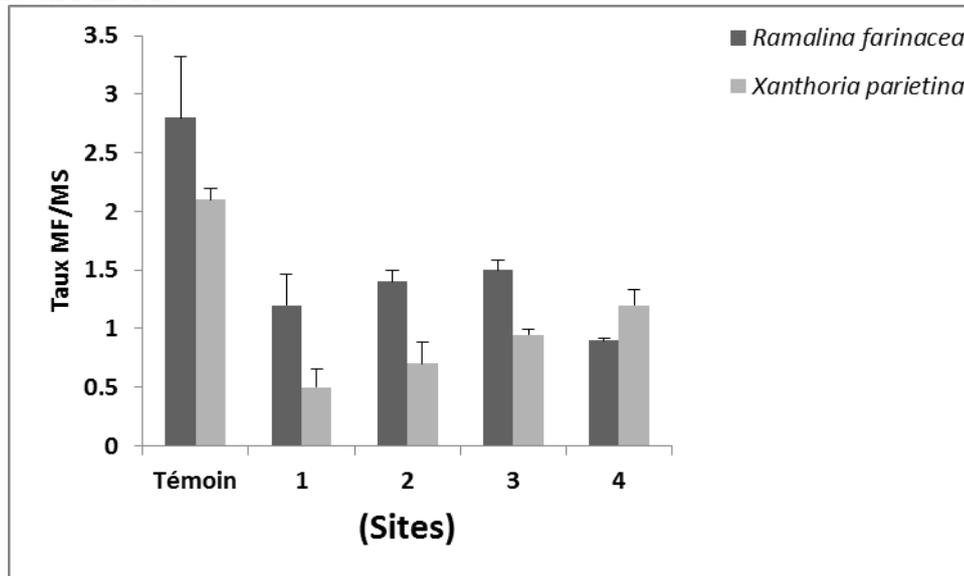


Figure 82. Variations globales du rapport MF/MS chez les deux espèces lichéniques (Année 2008)

Nous remarquons d'après cette figure que :

- ✓ Le rapport MF/MS, au niveau des 4 sites, est faible par rapport au témoin.
- ✓ Le rapport MF/MS au niveau du site 1 est le plus faible : (1,2) chez *Ramalina farinacea* et (0,5) chez *Xanthoria parietina*.
- ✓ L'échantillon du site 3 enregistre un rapport MF/MS légèrement faible par rapport au témoin : (1,5) chez *Ramalina farinacea* et (0,95) chez *Xanthoria parietina*.

Chez les deux espèces lichéniques, l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 4 sites ($p < 0,001$).

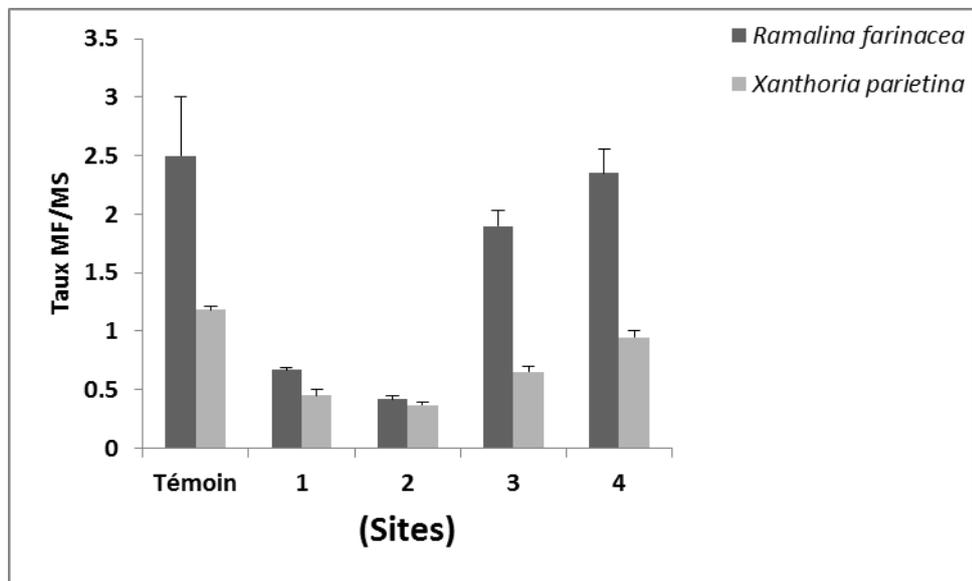


Figure 83. Variations globales du rapport MF/MS chez les deux espèces lichéniques (Année 2009)

La figure suivante (83), représente les variations du rapport MF/MS chez les deux espèces lichéniques (2009).

Nous constatons que:

- ✓ Le rapport MF/MS ,au niveau des 4 sites, est faible par rapport au témoin.
- ✓ Le rapport MF/MS au niveau du site 2 est le plus faible : **(0,42)** chez *Ramalina farinacea* et **(0,37)** chez *Xanthoria parietina*.
- ✓ L'échantillon du site 4 enregistre un rapport MF/MS légèrement faible par rapport au témoin : **(2,35)** chez *Ramalina farinacea* et **(0,95)** chez *Xanthoria parietina*.

Chez l'espèce *Ramalina farinacea*, l'analyse statistique révèle des différences hautement significatives entre les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des sites 1 et 2 ($p < 0,01$). Cependant, des différences non significatives ont été révélées entre les témoins et les échantillons transplantés au niveau des sites 3 et 4 ($p > 0,05$).

Chez l'autre espèce *Xanthoria parietina*, l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau de sites 1, 2 et 4 ($p < 0,001$). Tandis que, des différences hautement significatives ont été révélées entre les échantillons témoins et les échantillons transplantés au niveau du site 3 ($p < 0,01$).

7.1.5.Taux de GSH

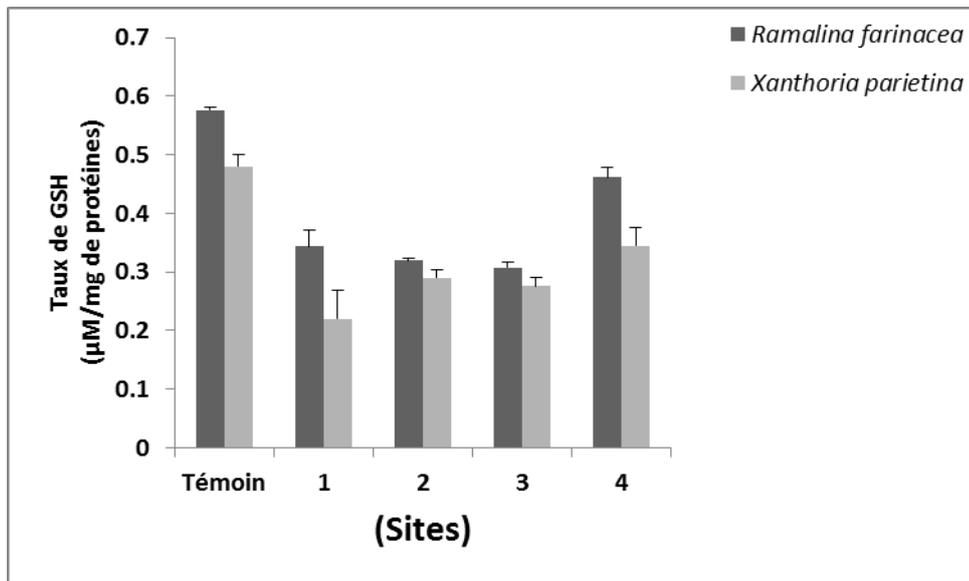


Figure 84. Comparaison des taux de GSH chez les deux espèces lichéniques (Année 2008)

La figure (84), illustre les variations du taux de GSH au niveau des 4 sites choisis. On constate une diminution du taux de GSH des échantillons transplantés au niveau des différents sites, par rapport au témoin. Chez *Xanthoria parietina*, le site 1 présente le taux le plus faible : (**0.220 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines**).

Chez les deux espèces lichéniques, l'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives du taux de GSH entre les échantillons témoins et les échantillons transplantés au niveau des sites 1,2,3 et 4 de *Ramalina farinacea* ($p < 0,001$), et des différences hautement significatives ont été révélées au niveau du site 4 de l'espèce *Xanthoria parietina* ($p < 0,01$).

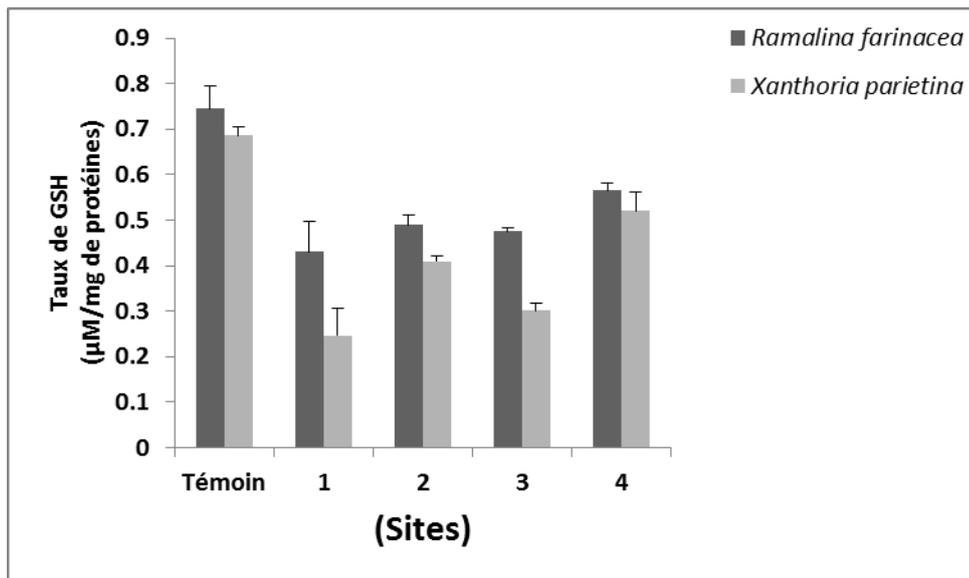


Figure 85. Comparaison des taux de GSH chez les deux espèces lichéniques (Année 2009)

La Figure (85), illustre les variations du taux de GSH chez *R. farinacea* et *X. parietina* au niveau du site témoin ainsi qu'au niveau des 4 sites choisis. En présence du polluant atmosphérique, le taux de GSH des échantillons transplantés au niveau des 4 sites diminue, par rapport aux témoins

jusqu'à **0.430 μM/mg de protéines** pour l'espèce : *R. farinacea* (site1) et jusqu'à **0,246 μM/mg de protéines** pour l'autre espèce : *X. parietina* du même site.

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives du taux de GSH entre les échantillons témoins et les échantillons transplantés au niveau des sites 1 , 2 et 3 de l'espèce *Xanthoria parietina* et au niveau du site 3 de l'espèce *Ramalina farinacea* (p<0,001).Cependant ,des différences hautement significatives ont été révélées au niveau des sites 1, 2 pour *Ramalina farinacea* et au niveau du site 4 pour les deux espèces (*R. farinacea et X. parietina*) (p<0.01).

7.1.6.Activité GST

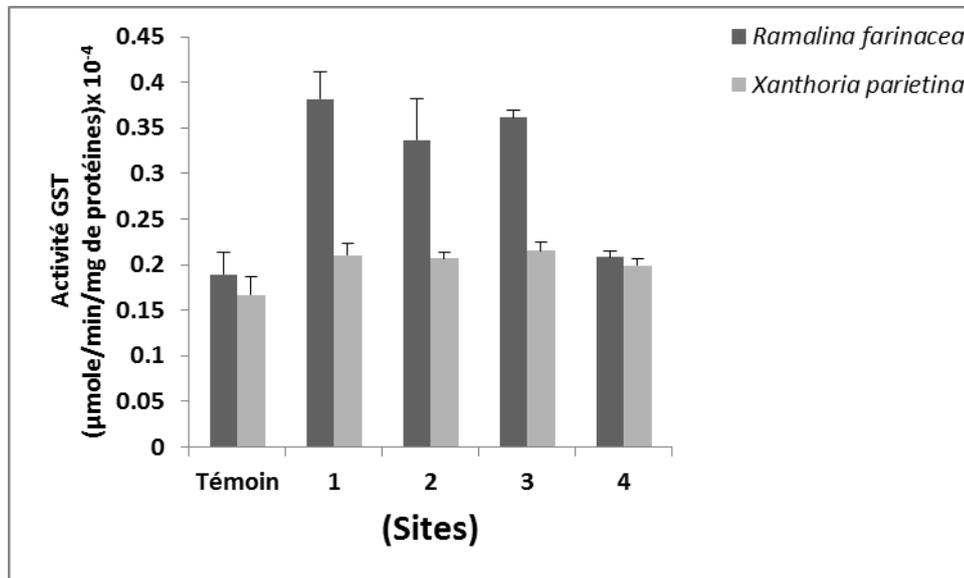


Figure 86. Comparaison des activités de GST chez les deux espèces lichéniques (Année 2008)

La Figure (86), illustre les variations de l'activité de GST au niveau des 4 sites choisis chez les deux espèces de lichens. Ainsi en présence du polluant atmosphérique, cette activité GST augmente chez les échantillons transplantés au niveau des différents sites par rapport aux témoins .Au niveau du site (4), on constate une activité proche de celle du témoin par rapport au site 1 qui présente une activité maximale : **0,382 x10⁻⁴ μM/min/mg de protéines** chez *R. farinacea*.

Le site 3 de l'autre espèce *X. parietina* , présente le maximum de cette activité GST : **0,215x10⁻⁴ μM/min/mg de protéines**.

L'analyse statistique de *Ramalina farinacea* , révèle des différences très hautement significatives entre les témoins et les échantillons transplantés au niveau des sites 1 et 3 (p<0,001).Cependant, les échantillons du site 2 présente une différence hautement significative (p<0,01).Des différences significatives ont été révélées entre les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des sites 1,2 et 3 de l'espèce *Xanthoria parietina* (p<0,05).Les échantillons du site 4 des deux espèces ,présente des différences non significative par rapport au témoin (p>0,05).

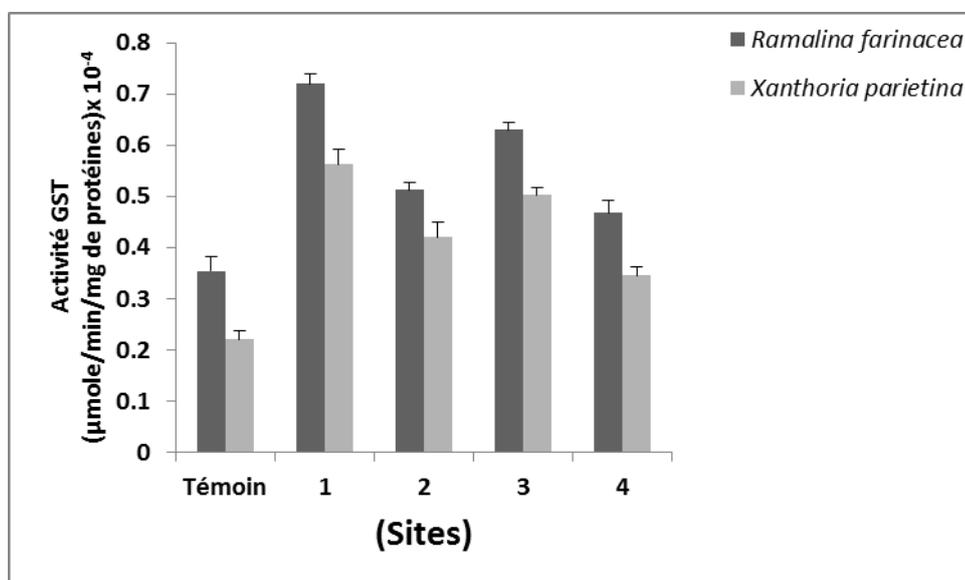


Figure 87. Comparaison des activités de GST chez les deux espèces lichéniques (Année 2009)

La Figure (87), représente les variations de l'activité de GST de *R. farinacea* et *X. parietina*, au niveau des 4 sites choisis. Nos résultats montrent qu'en présence de pollution atmosphérique, chez les deux espèces lichéniques, l'activité GST des échantillons transplantés au niveau des différents sites augmente par rapport au témoin. On constate que chez l'espèce *R. farinacea*, une nette augmentation de cette activité GST au niveau du site 3 et 4 par rapport au témoin (**0,630**) et (**0,467**) $\times 10^{-4}$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines.

Le site 1, présente l'activité la plus élevée : **0,720** $\times 10^{-4}$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines (*R. farinacea*) et **0,562** $\times 10^{-4}$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines (*X. parietina*).

Chez les deux espèces considérées, l'analyse statistique révèle une différence très hautement significative entre les témoins et les échantillons transplantés au niveau des sites 1,2 et 3 et site 4 de *X. parietina* ($p < 0.001$). Cependant, une différence hautement significative a été enregistrée au niveau du site 4 de *R. farinacea* ($p < 0,01$) par rapport au témoin.

7.1.7. Les chlorophylles (a,b et a+b)

7.1.7.1. Comparaison des teneurs en chlorophylles (a,b et a+b) chez les deux espèces : *Ramalina farinacea* et *Xanthoria parietina* (Année 2008)

Tableau 14. Variations de la teneurs en Chlorophylle (a,b et a+b) chez *Ramalina farinacea* au niveau des 4 sites (2008).

Sites	Chl. a (mg g ⁻¹) de PF	Chl. b (mg g ⁻¹) de PF	Chl. a+b (mg g ⁻¹) de PF
Témoin	4.1±0.26	4.2±0.27	9.2±0.79
1	0.5±0.13	3.6±0.47	4.1±0.17
2	1.2±0.086	3.8±0.02	5.05±0.066
3	2.3±0.15	4.1±0.45	5.4±0.62(**)
4	2.5±0.52(**)	4.5±0.43	7.00±1.00(*)
ANOVA	P≤0,001	P>0,05	P≤0,001

➤ Chlorophylle a:

Les teneurs de la chl (a) enregistrent certaines fluctuations, néanmoins nous constatons que les teneurs les plus faibles, par rapport aux témoins, sont enregistrés au niveau du site 1 (El Bouni) (**0.5mg/g** de PF) et site 2 (Sidi Amar) (**1.2mg/g** de PF).

➤ **Chlorophylle *b*:**

Le site 3 enregistre des teneurs proches du témoin : **4.1mg /g de PF**.

Cependant, les deux sites (1 et 2), enregistrent des teneurs moins élevés par rapport au témoin ,soit (**3.6 et 3.85mg/g de PF**),et des teneurs maximales au niveau du site **4 (Centre-ville) :(4.5mg/g de PF)**.

➤ **Chlorophylle (*a+b*):**

Les teneurs de la chlorophylle (*a+b*) diminuent au niveau des 4 sites par rapport au témoin qui présente la teneur la plus élevée avec une valeur de **9.2mg/g de PF**.

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des différents sites et ceux pour la **chl (*a*)** et aussi pour la **chl (*a+b*)** du site 1 et 2 ($P<0,001$). Cependant, des différences hautement significatives ont été enregistrées pour la **chl (*a+b*)** du site 3 et pour la **chl (*a*)** du site 4 ($p<0,01$). L'analyse statistique révèle des différences significatives de la **chl (*a+b*)** chez les échantillons du site 4 ($p<0,05$).

La **chl (*b*)** des échantillons témoins et ceux des 4 sites enregistre des différences non significatives ($p>0,05$).

Tableau 15. Variations de la teneur en Chlorophylle (*a,b* et *a+b*) chez *Xanthoria parietina* au niveau des 4 sites (Année 2008).

Sites	Chl. <i>a</i> (mg g ⁻¹)de PF	Chl. <i>b</i> (mg g ⁻¹)de PF	Chl. <i>a+b</i> (mg g ⁻¹)de PF
Témoin	3.8±0.19	4.2±0.06	7.3±0.33
1	0.31±0.05	0.54±0.09	0.9±0.22
2	0.52±0.06	1.06±0.06	2.05±0.08
3	1.03±0.11	1.9±0.05	3.5±0.27
4	2.5±0.15(**)	3.4±0.15	6.03±0.08
ANOVA	$P\leq 0,001$	$P\leq 0,001$	$P\leq 0,001$

➤ **Chlorophylle *a*:**

Les teneurs de la **chl (*a*)** enregistrent certaines fluctuations, néanmoins nous constatons que les teneurs les plus faibles sont enregistrées au niveau du site 1 (**El Bouni**) (**0.31mg/g de PF**) et site 2 (**Sidi Amar**) (**0,52mg/g de PF**). .

➤ **Chlorophylle *b*:**

Nous remarquons que le site 1, enregistre les teneurs les moins élevées : **0.54 mg /g de PF** par rapport au témoin.

Cependant, le site 4, enregistre les teneurs les plus élevés par rapport au témoin : **3.4mg/g de PF** .

➤ **Chlorophylle (*a+b*):**

Les teneurs de la chlorophylle (*a+b*) diminuent au niveau des 4 sites par rapport au témoin .

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des différents sites et ceux pour la **chl (*a+b*)**, **chl (*a*)** et **chl (*b*)** ($P<0.001$). Seulement ,au niveau du site 4 , la **chl (*a*)** enregistre des différences hautement significatives ($p<0.01$)

7.1.7.2. Comparaison des teneurs en chlorophylles (*a*, *b* et *a+b*) chez les deux espèces : *Ramalina farinacea* et *Xanthoria parietina* (Année 2009)

Tableau 16. Variations de la teneur en Chlorophylle (*a*, *b* et *a+b*) chez *Ramalina farinacea* au niveau des 4 sites (Année 2009).

Sites	Chl. <i>a</i> (mg g ⁻¹) de PF	Chl. <i>b</i> (mg g ⁻¹) de PF	Chl. <i>a+b</i> (mg g ⁻¹) de PF
Témoin	8.40±0.82	3.10±0.36	11.5±0.45
1	5.30±0.26	1.9±0.17(**)	7.02±0.14(***)
2	5.70±0.46	2.6±0.52	8.30±0.87(**)
3	6.09±0.19	3.71±0.16	9.80±0.26(**)
4	7.15±0.16 (NS)	2.94±0.17	10.09±0.10 (**)
ANOVA	P≤0,001	P≤0,001	P≤0,001

➤ **Chlorophylle (*a*):**

Les teneurs de la chl (*a*) enregistrent certaines fluctuations, néanmoins nous constatons que les teneurs les plus faibles, par rapport aux témoins, sont enregistrés au niveau des sites : **1 (El Bouni : 5.30mg/g de PF)** et **2 (Sidi Amar: 5.70mg/g de PF)**.

➤ **Chlorophylle (*b*):**

Nous remarquons que les sites **1** et **2** enregistrent les teneurs les plus faibles par rapport au témoin soit respectivement : **1.9** et **2.6 mg/g de PF**.

Les autres sites enregistrent des teneurs plus élevés, après un maximum de ces teneurs au niveau du site **3** : **(3.71mg/g de PF)**, on constate une diminution au niveau du site **4** soit de **(2.94mg/g de PF)**.

➤ **Chlorophylle (*a+b*):**

Les teneurs de la chlorophylle (*a+b*) diminuent au niveau de tous les sites, par rapport au témoin qui présentent la teneur la plus élevée : **11,5 mg/g de PF**.

Le site 1 est celui qui représente une teneur maximale de : **(7.02mg/g de PF)**.

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau du site 1 et ceux pour la chl (*a+b*) (P<0,001). Cependant, des différences hautement significatives ont été enregistrées pour la chl (*a+b*) des sites 2, 3 et 4 et chl (*a*) des sites 1, 2 et 3 et la chl (*b*) du site 1 (p<0,01). Des différences non significatives de la chl (*b*) ont été enregistrées chez les échantillons des sites 2, 3 et 4, et chl (*a*) du site 4 (p>0,05).

Tableau 17. Variations de la teneur en Chlorophylle (*a*, *b* et *a+b*) chez *Xanthoria parietina* au niveau des 4 sites (Année 2009).

Sites	Chl. <i>a</i> (mg g ⁻¹)	Chl. <i>b</i> (mg g ⁻¹)	Chl. <i>a+b</i> (mg g ⁻¹)
Témoin	5.10±0.30	4.00±0.07	9.10±0.18
1	4.00±0.21(**)	2.30±0.22	6.30±0.32
2	5.08±0.10(NS)	2.02±0.05	7.10±0.33
3	4.32±0.5(NS)	3.10±0.20(**)	7.42±0.83(*)
4	5.01±0.25(NS)	3.01±0.08	8.02±0.30(**)
ANOVA	P≤0,001	P≤0,01	P≤0,001

➤ **Chlorophylle (*a*):**

Nous constatons que les teneurs les plus faibles de la chl (*a*) sont enregistrées au niveau des sites : **1 (El Bouni : 4.00mg/g de PF)** et **3 (El Hadjar : 4.32mg/g de PF)**.

➤ Chlorophylle (b):

Les teneurs de la **chl (b)** enregistrent certaines fluctuations, nous remarquons que les sites **1** et **2** enregistrent les teneurs les plus faibles par rapport au témoin soit respectivement : **2.30 et 2.02 mg/g de PF**.

Les sites (3 et 4), enregistrent des teneurs plus élevées par rapport aux sites 1 et 2. Ces mêmes sites représentent des teneurs en **chl (b)** inférieures par rapport au témoin.

➤ Chlorophylle (a+b):

Les teneurs de la chlorophylle (**a+b**) diminuent au niveau de tous les sites par rapport au témoin : **9.10mg/g de PF**.

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des sites 1 et 2 pour la **chl (a+b)** et des sites 1, 2 et 4 pour la **chl (b)** ($p < 0,001$). Cependant, des différences hautement significatives ont été enregistrées pour la **chl (a+b)** du site 4 et **chl (a)** du site 1 et à la **chl (b)** du site 3 ($p < 0,01$). Des différences significatives ont été enregistrées pour le site 3 de la **chl (a+b)** ($p < 0,05$), et des différences non significatives ont été révélées de la **chl (a)** chez les échantillons des sites 2, 3 et 4 ($p > 0,05$).

7.2. Comparaison de l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des deux espèces lichéniques : *R. farinacea* et *X. parietina*

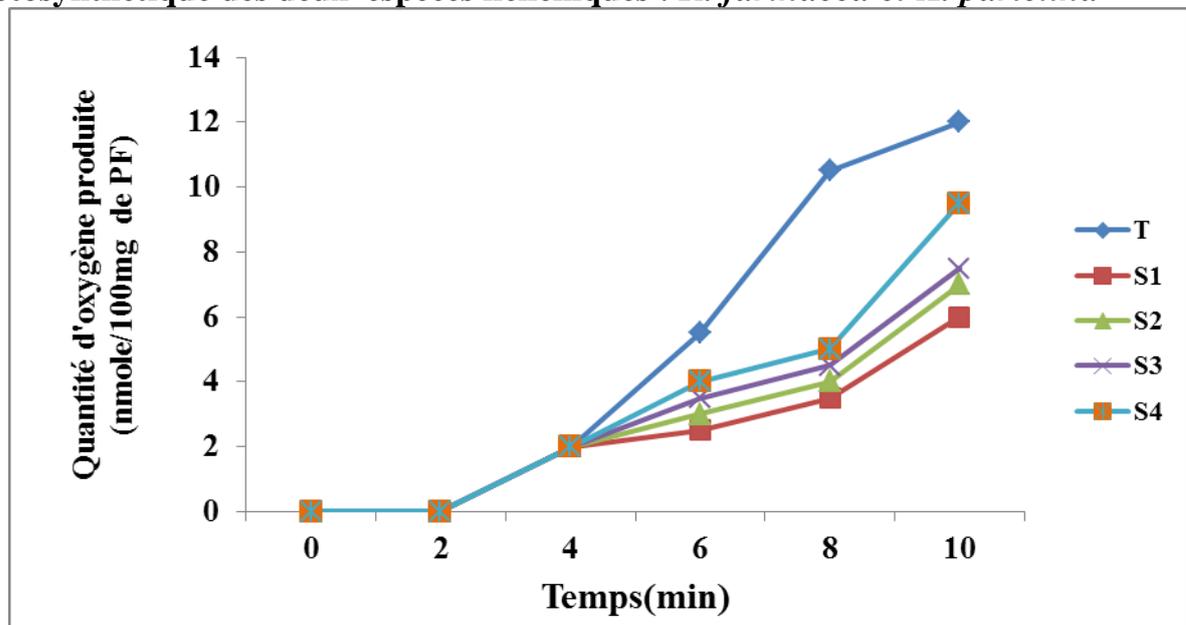


Figure 88. Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique de l'espèce *Ramalina farinacea* (Année 2008)

La figure (88), qui illustre l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des lichens de *R. farinacea*.

Après la transplantation, on observe une nette augmentation de la quantité d'O₂ produite dans le milieu, dès la 2^{ème} minute d'enregistrement pour les échantillons témoins. Le maximum de cette quantité a été enregistré à 10min pour l'échantillon témoin, qui atteint : **12 nmole d'O₂/100mg de PF**.

À quatre minutes, les niveaux enregistrés chez les échantillons transplantés au niveau des 4 sites commencent à partir d'un même point. L'échantillon du site 1, présente la quantité produite la moins élevée jusqu'à 10 min : **6 nmole d'O₂/100mg de PF** (Réduction ≈ 50% par rapport au témoin).

L'analyse statistique a révélé des différences très hautement significatives entre la photosynthèse des échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 4 sites choisis ($p < 0.001$).

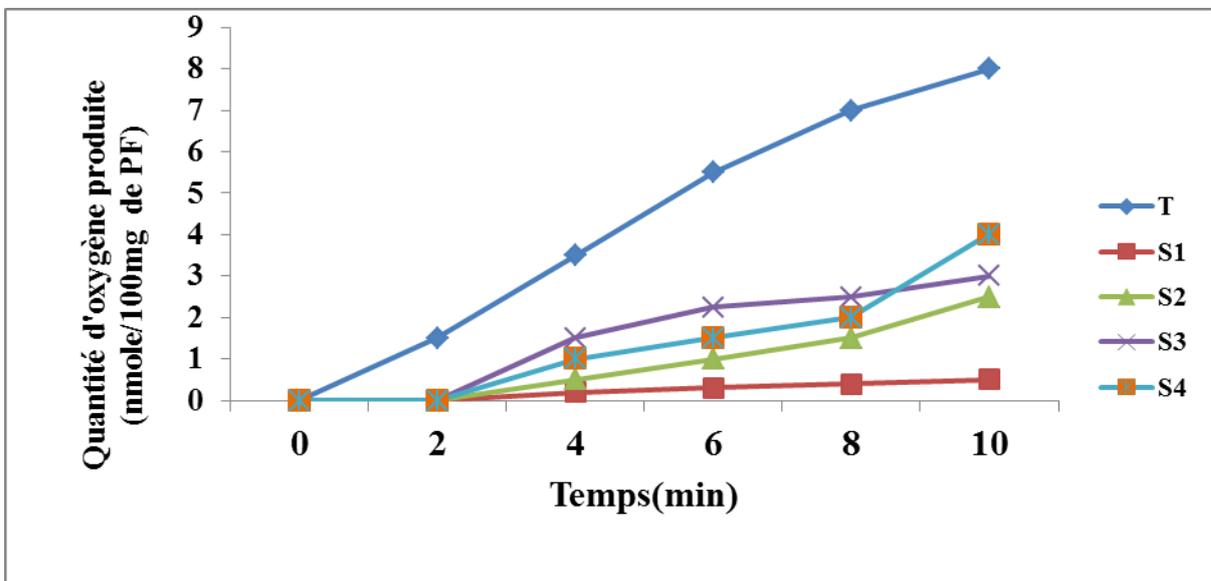


Figure 89. Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique de l'espèce *Xanthoria parietina* (Année 2008)

La figure (89), illustre l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des lichens de *X. parietina* (après la transplantation) où l'on remarque une libération d'O₂ dans le milieu pour les échantillons témoins ainsi que pour les échantillons des 4 sites choisis.

On observe une nette augmentation de la quantité d'O₂ produite dans le milieu dès le début d'enregistrement (temps 0 min) pour les échantillons témoins. Le maximum de cette quantité d'O₂ produite a été enregistré à 10min pour atteindre : **8 nmole d'O₂/100mg de PF**.

La quantité d'O₂ produite dans le milieu la moins élevée, a été enregistrée par l'échantillon du site 1 : (à 10 min **0,50 nmole d'O₂/100mg de PF**).

L'analyse statistique a révélé des différences significatives entre la photosynthèse des échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 4 sites choisis ($p < 0.05$).

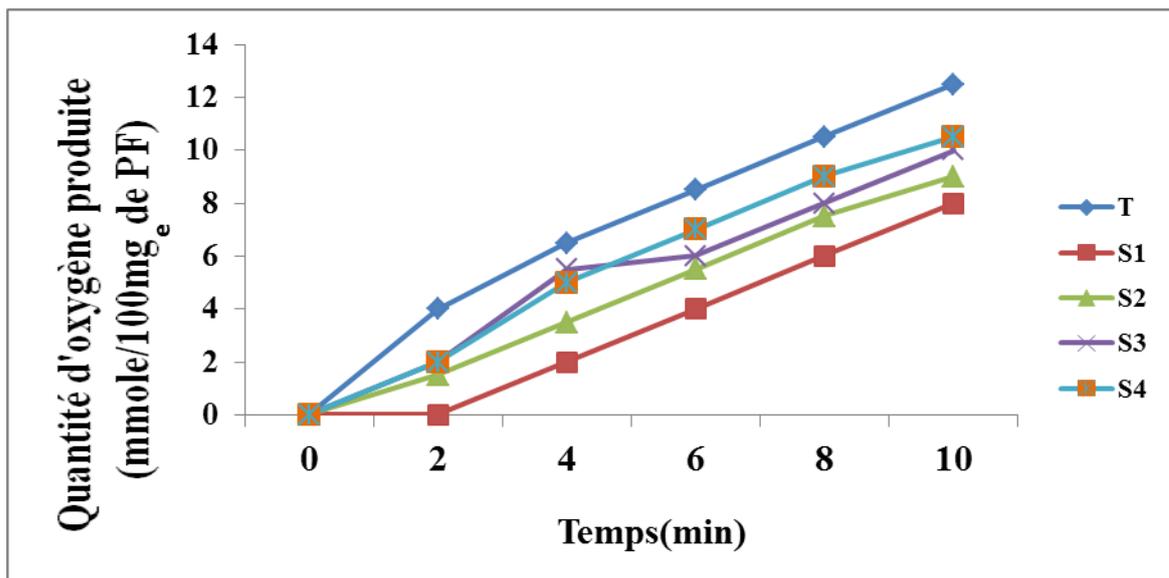


Figure 90. Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique de l'espèce *Ramalina farinacea* (Année 2009)

La figure (90), illustre l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des lichens de *R. farinacea*.

Après la transplantation, on observe une nette augmentation de la quantité d'O₂ produite dans le milieu dès le début d'enregistrement (temps 0 min) pour les échantillons témoins. Le maximum de cette quantité d'O₂ produite dans le milieu, a été enregistré à 10min pour l'échantillon témoin qui atteint : **12.5 nmole d'O₂/100mg de PF**.

L'échantillon du site 1 présente la quantité d'O₂ produite la moins élevée jusqu'à 10 min), soit : **8 nmole d'O₂/100mg de PF** (Réduction ≈ 65% par rapport au témoin).

L'analyse statistique a révélé des différences très hautement significatives entre la photosynthèse des échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 4 sites choisis (p<0.001).

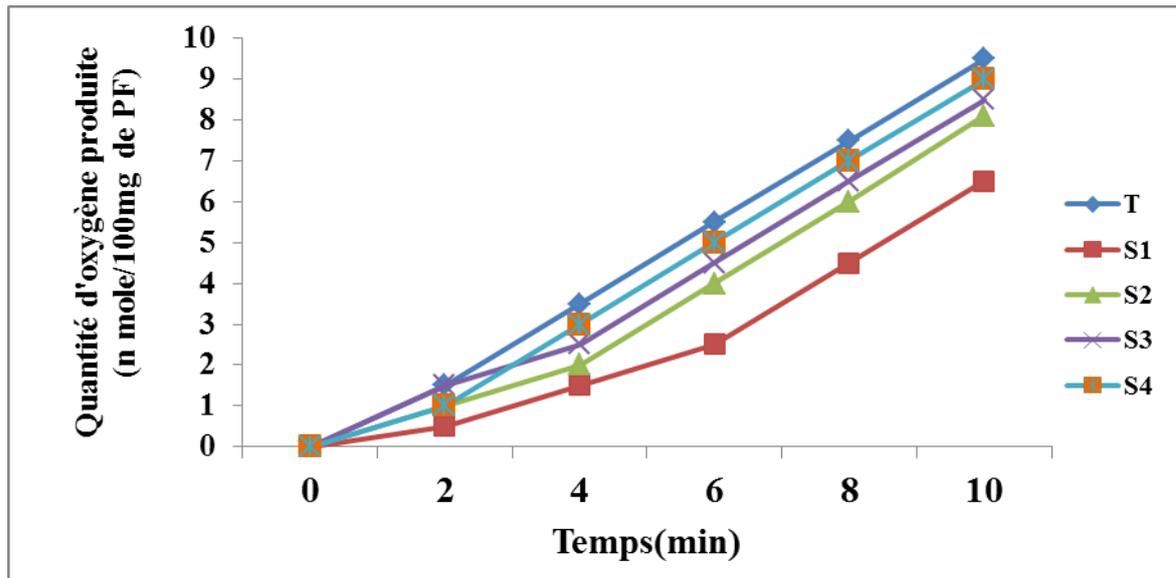


Figure 91. Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique de l'espèce *Xanthoria parietina* (Année 2009)

La figure (91), illustre l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme photosynthétique des lichens de *X. parietina* (après la transplantation) où l'on remarque une libération d'O₂ dans le milieu pour les échantillons témoins ainsi que les échantillons des 4 sites choisis.

On observe une nette augmentation de la quantité d'O₂ produite dans le milieu dès le début d'enregistrement (temps 0 min) pour les échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 4 sites. Le maximum de cette quantité d'O₂ produite a été enregistré à 10min pour l'échantillon témoin et l'échantillon du site (4) ≈ **9 nmole d'O₂/100mg de PF**.

L'échantillon du site 1 présente la quantité produite la moins élevée jusqu'à 10 min, soit : **6,5 nmole d'O₂/100mg de PF** (Réduction ≈ 72% par rapport au témoin).

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre la photosynthèse des échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 4 sites choisis (p<0.001).

7.3.Comparaison de l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des deux espèces lichéniques : *R. farinacea* et *X. parietina*

La figure(92), illustre l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des lichens témoins et transplantés au niveau des 4 sites choisis.

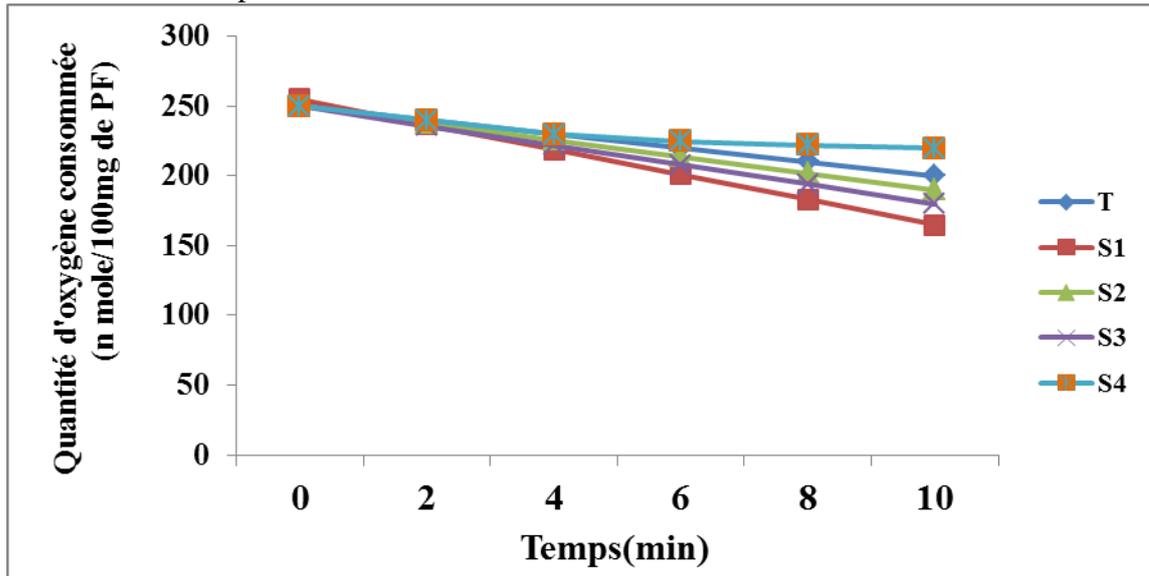


Figure 92 . Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire de l'espèce *Ramalina farinacea* (Année 2008)

On constate que les lichens témoins présentent une respiration qui démarre à 250nmole d'O₂ et atteint 200 nmole d'O₂ après 10min, la vitesse d'oxydation moyenne est : 5nmole d'O₂/min.

La transplantation provoque une forte accélération observée à partir de la 4^{ème} minute au niveau des échantillons du site 1 (**El Bouni**) où la pollution est extrêmement forte (vitesse d'oxydation est : 9nmole d'O₂/min). En effet , cette vitesse est de l'ordre de 6-7 et 3 nmole d'O₂/min, respectivement ,au niveau des sites 2,3 et 4.

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre la respiration des échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 4 sites choisis (p<0.001).

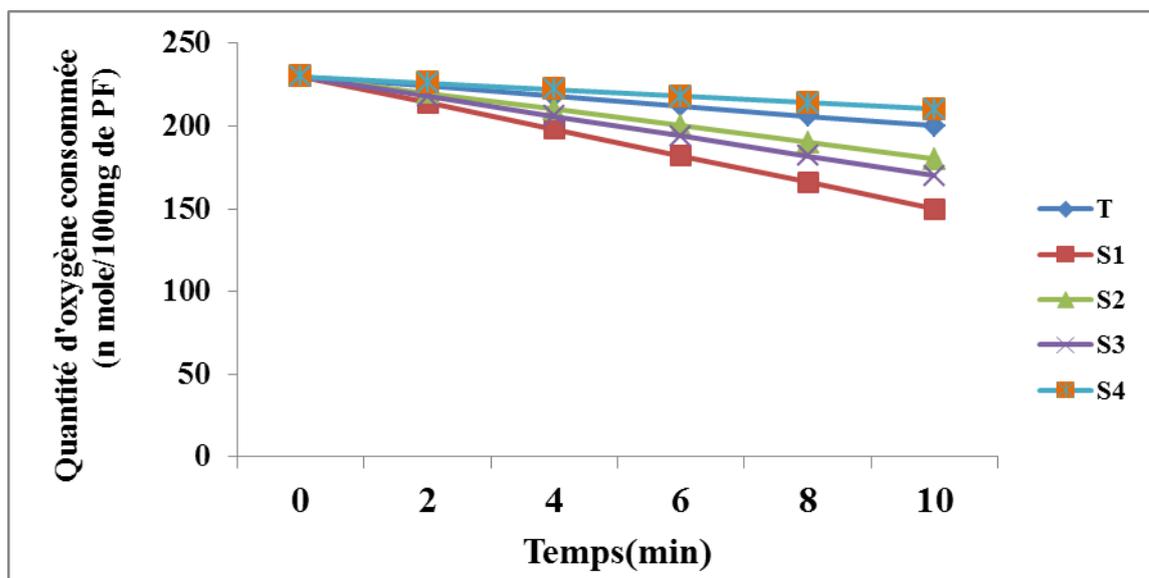


Figure 93. Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire de l'espèce *Xanthoria parietina* (Année 2008)

La figure (93), illustre l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des lichens. On constate que toutes les courbes commencent à partir d'un même point environ : 230 nmole d'O₂ . Chez les lichens témoins, la vitesse d'oxydation est de l'ordre de : 3 nmole d'O₂/min.

La transplantation des échantillons au niveau des 4 sites, provoquent une accélération de la vitesse d'oxydation, par rapport au témoin, soit : **8 nmole d'O₂/min** au niveau du site 1. Pour les sites (2 et 3), les vitesses d'oxydation obtenus semblent très proches (respectivement **5 et 6 nmole d'O₂/min**).

En effet, le taux d'oxygène consommé après la 10^{ème} minute pour les échantillons du site 4 est de l'ordre de : **210 nmole d'O₂**, ce qui correspond à une vitesse de respiration inférieure de celle du témoin : **2 nmole d'O₂/min**.

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre la respiration des échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 4 sites choisis ($p < 0.001$).

La figure (94), illustre l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des lichens témoins et transplantés au niveau des 4 sites choisis.

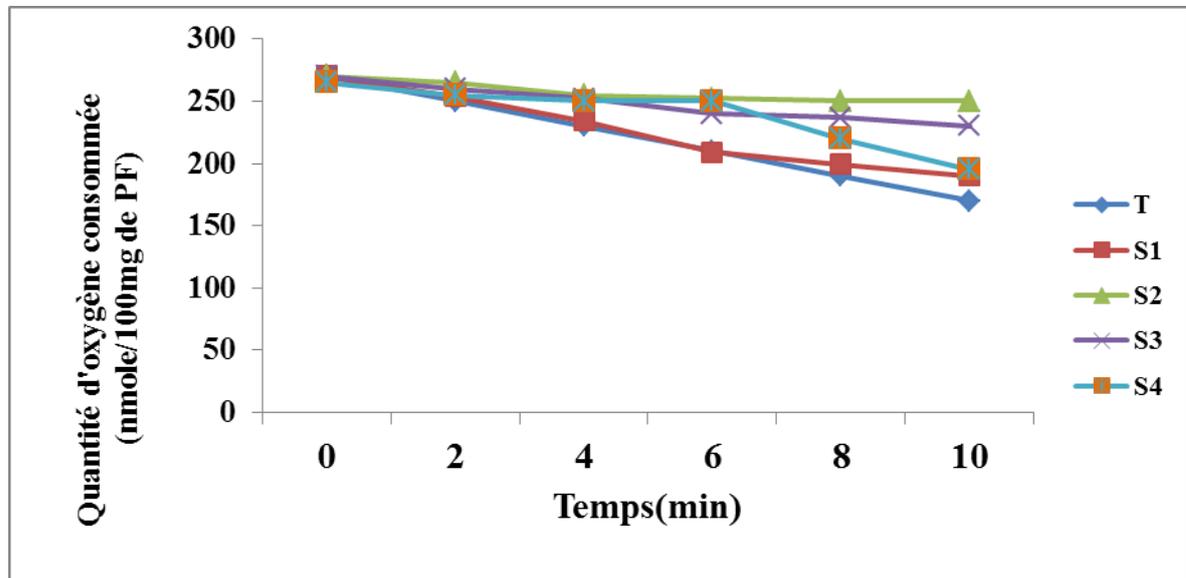


Figure 94. Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire de l'espèce *Ramalina farinacea* (Année 2009)

D'après la figure (94), on constate que les lichens témoins présentent une respiration qui démarre à **270 nmole d'O₂** et atteint **170 nmole d'O₂** après 10 min, la vitesse d'oxydation moyenne est : **10 nmole d'O₂/min**.

La transplantation provoque une inhibition de la respiration observée à partir de la 2^{ème} minute au niveau des échantillons du site 2 (**Sidi Amar**) où la pollution est extrêmement forte (vitesse d'oxydation est : **2 nmole d'O₂/min**). En effet, cette vitesse est de l'ordre de : **8-4 et 7 nmole d'O₂/min** (respectivement) au niveau des sites 1, 3 et 4.

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre le métabolisme respiratoire des échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 4 sites choisis ($p < 0.001$).

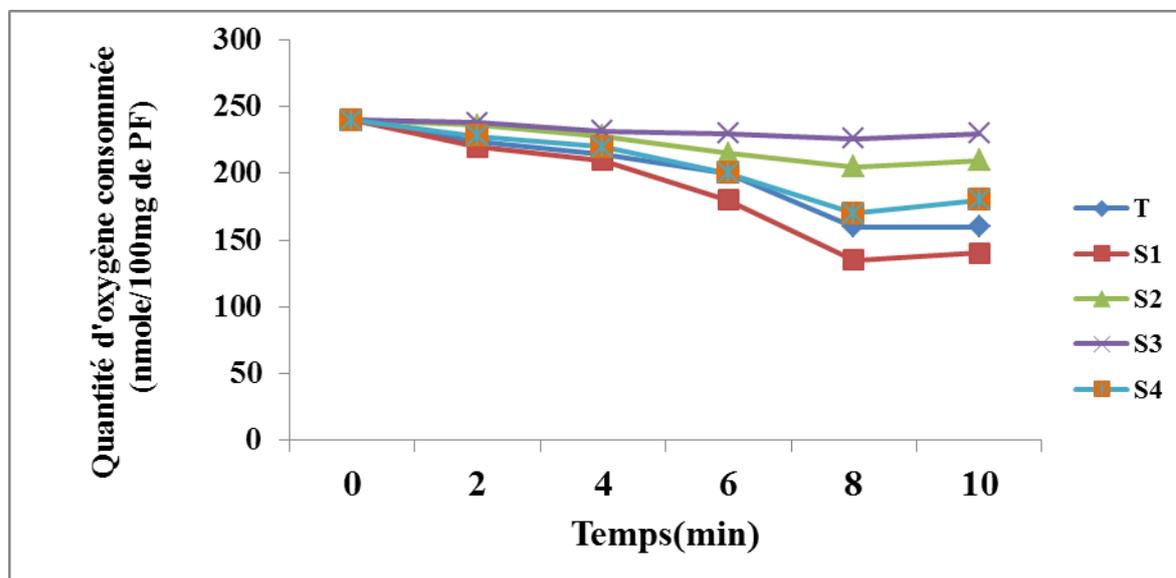


Figure 95. Effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire de l'espèce *Xanthoria parietina* (Année 2009)

La figure (95), illustre l'effet de la pollution atmosphérique sur le métabolisme respiratoire des lichens. On constate que toutes les courbes commencent à partir d'un même point environ **240 nmole d'O₂**. Chez les lichens témoins, la vitesse d'oxydation est de l'ordre : **8 nmole d'O₂/min**.

La transplantation des échantillons au niveau du site 1, provoque une accélération de la vitesse d'oxydation soit : **10 nmole d'O₂/min** par rapport aux différents sites. Pour les sites (2 et 3), les vitesses d'oxydation obtenus semblent très proches (respectivement **3** et **1 nmole d'O₂/min**). En effet, le taux d'oxygène consommé après la 10^{ème} minute pour les échantillon du site 4 est de l'ordre de : **180 nmole d'O₂**, ce qui correspond à une vitesse de respiration inférieure par rapport au témoin : **6 nmole d'O₂/min**.

L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre le métabolisme respiratoire des échantillons témoins et ceux transplantés au niveau des 4 sites choisis ($p < 0.001$).

DISCUSSION

La région d'Annaba étant particulièrement touchée par la pollution atmosphérique, il était important d'aborder ce problème par le biais de la bio-indication végétale et non uniquement par les mesures de capteurs.

La détection et l'estimation de la pollution atmosphérique avec les lichens sont possibles dans la mesure où ces végétaux réunissent les conditions que l'on attend des indicateurs biologiques. (Steubing,1982 ; Posthumus,1983) . Outre les qualités :

- ✓ de sensibilité remarquable à la pollution liée à un pouvoir exceptionnel d'accumuler rapidement les polluants d'origine atmosphérique ;
- ✓ de facilité d'utilisation due à leur activité continue et à leur longévité ;
- ✓ une grande densité de leur répartition géographique, une abondance des espèces ;
- ✓ les lichens possèdent la faculté de réagir rapidement à une baisse de la pollution grâce au mécanisme d'ex sorption qui reflète quantitativement la diminution de la pollution (Déruelle,1996).

Depuis déjà longtemps, les lichens sont utilisés comme des bio-indicateurs et bio-intégrateurs performants dans la détection de la pollution atmosphérique. Les lichens ne possèdent pas les structures lui permettant de limiter les conséquences de la pollution atmosphérique, leur disparition est considérée comme un signe de pollution (Gilbert,1973).

De nombreuses études tant biogéographiques que biochimiques se sont succédées dans le monde, surtout depuis 1950, démontrant l'influence de l'aéro-pollution sur le développement des lichens (Lerond,1984).

En France, depuis une trentaine d'années, l'estimation de la pollution atmosphérique acide à partir de l'observation des lichens a été tentée dans diverses régions, le plus souvent à l'aide d'une méthode qualitative anglaise : la méthode de Haksworth et Rose (1970). C'est une méthode qui s'appuie sur une échelle de corrélation entre la flore lichénique épiphyte et les taux de pollution atmosphérique acide exprimés en SO₂ par m³ d'air.

Les études effectuées par cette méthode concernent différentes régions telles que le Nord de la France, la région Parisienne. Pour être complet ,il convient de signaler également que l'observation de la végétation lichénique a permis de visualiser d'autres types de pollution : Pollution fluorée (Asta , 1980), Pollution azotée (Déruelle ,1983), Pollution par le plomb (Déruelle,1984).

L'analyse du fluor a été aussi effectuée dans plusieurs espèces de lichens récoltés durant 11 années (1975 à 1985) dans la vallée de l'Arc (Maurienne, Savoie, France) par Belandria et al., (1991). Ces chercheurs ont observés une diminution de la concentration en fluor des lichens en particulier de 54 à 21ppm chez les Parméliacées, de 106 à 12 ppm chez *Peltigera canina* et de 124 à 44 ppm chez *Umbilicaria cylindrica*. Ils ont mis en évidence que cette diminution de la concentration en fluor des lichens reflète les variations du niveau du pollution fluorée de l'atmosphère entre 1975 et 1985.

L'estimation de la qualité de l'air en utilisant les lichens dans la région de Grenoble (France) a été étudiée par Gombert et al.,(2004), où ils ont constaté une diminution des taux de SO₂ pendant plusieurs années d'étude.

C'est dans ce domaine que les lichens trouvent toute leur justification en tant que sentinelles de l'environnement. La sensibilité différentielle des lichens à la pollution atmosphérique est à l'origine de combinaisons d'espèces originales reflétant soit des gammes de concentrations en polluants, soit un niveau de qualité de l'air. C'est sur ce principe que reposent les différentes échelles de sensibilité mettant en correspondance la diversité lichénique avec soit les concentrations en SO₂, soit l'intensité de pollution (par le fluor, les photo-oxydants,ou les composés azotés), soit la qualité globale de l'air (Kricke et Loppi, 2002 ; Van Haluwyn et Van Herk, 2002).

La pollution atmosphérique peut être détectée grâce à différents végétaux supérieurs, mousses, écorces et surtout lichens (Gombert et Asta,1997).

Dans le cas des polluants atmosphériques, les plantes supérieures ont des moyens de défense en cas d'arrivée d'une pollution brusque ; l'existence de la régulation somatique, la protection cuticulaire des feuilles (**Leclerc, 1999**).

D'après **Kershaw (1985)**, les lichens étaient très sensibles aux pollutions atmosphériques (grande surface de contact, absence de stomates et de cuticule proprement dite), et pouvaient être d'excellents bioindicateurs, une difficulté étant cependant la reconnaissance des espèces associée à la grande variabilité phénotypique.

Beaucoup de travaux (**Arndt et al., 1987**), cherchent à expliquer les effets des polluants atmosphériques sur la croissance et divers paramètres du fonctionnement des végétaux. Ils s'intéressent particulièrement aux effets des fortes teneurs en NOx sur les plantes, dans des travaux de nombreux laboratoires, ce qui justifie par l'intérêt pour la physiologie de la photosynthèse, et par l'impact essentiel que peut avoir la croissance de la biomasse des végétaux dans une stratégie de lutte contre l'augmentation du NOx atmosphérique.

Selon **Barneau et Ursu (1974)**, les plantes sont exposées aux effets toxiques des polluants de l'atmosphère comme les autres êtres. Ces polluants agissent sur le métabolisme et les fonctions de base appartenant à n'importe quel être vivant. Ces effets toxiques sont, soit directs, du fait du contact de l'air, soit indirects par l'intermédiaire de substances nutritives et de l'eau polluée dans le sol.

Les lichens colonisent un grand nombre de milieux et de supports, notamment l'écorce des arbres (lichens épiphytes). Leur observation peut donc être réalisée sur de vastes territoires, avec une densité importante de points.

Toutes ces caractéristiques ont fait que les lichens ont été l'objet de très nombreuses recherches concernant la pollution atmosphérique en général (**Loppi et al., 2004**). **Bargali (1998 b)**, dresse une liste des espèces lichéniques utilisables comme bio accumulateurs, en fonction de leur écologie et de leur tolérance à la pollution de l'air.

Etant donné que cette partie de notre étude a porté sur l'échantillonnage de deux espèces de lichens en particulier *Xanthoria parietina* et *Ramalina farinacea* qui sont d'excellents bioindicateurs de la pollution atmosphérique, afin d'apprécier l'accumulation des polluants gazeux en fonction de la distance.

Il faut prendre en considération que le temps d'exposition de ces deux espèces de lichens n'a pas été très long (1 mois), période d'étude utilisée généralement pour les transplants (**Lodenus, 1989**).

L'accumulation des polluants par les lichens montre qu'ils sont caractérisés par un pouvoir accumulateur élevé mais ce dernier reste en fonction de la distance par rapport à la source de pollution (**Nieboer et al., 1972 ; Tomassini et al., 1976**).

Les plantes souffrent d'effets nocifs plus immédiats et plus puissants que les autres êtres pour plusieurs raisons : sensibilité plus grande, capacité d'adaptation et de défense plus réduite, contacts plus étendus et presque permanents avec l'atmosphère polluée et dépendance totale des facteurs locaux pédologiques et climatiques (**Couach et al., 1999**).

Par ailleurs, **Pesch et Schröder, (2006)** ont montré que les paramètres climatiques et les caractéristiques écologiques régionales influencent l'accumulation des polluants dans les lichens.

Dans les deux parties de ce chapitre, les résultats obtenus ont montré que l'observation des paramètres dosés dans du matériel végétal présent naturellement ou transplanté était tout à fait pertinente pour une étude du suivi de l'impact d'une usine des fertilisants sur l'environnement à côté de d'autres sources de pollution.

Afin de confirmer l'état de stress provoqué chez nos échantillons (partie I et II), nous avons suivi également l'évolution du taux de proline, connue comme étant un marqueur du stress chez les

végétaux. Nos résultats ont mis en évidence une augmentation du taux de proline concordent avec ceux de **(Bensoltane, 2005)** qui a enregistré une augmentation de la proline lors d'un stress du au NH_4NO_3 chez les mousses et les lichens. Cette accumulation, a été démontrée chez de nombreuses variétés de blé et dans plusieurs types de stress (osmotiques, hydriques, thermiques) **(Huang et Cavalieri, 1979 ; Hubac et Viera, 1980 ; Bellinger et al., 1989 ; Ober et Sharp, 1994)**. Ainsi avec ceux de **(Gherroucha et Djekoun, 1997)**, qui ont montré que l'application foliaire de l'IAA et GA_3 et leur interaction sur la croissance du blé, sous condition de salinité induit une augmentation de la teneur en proline en fonction des concentrations de sel.

La proline est un acide aminé soluble dans l'eau et l'alcool et facilement oxydable par la ninhydrine, elle s'accumule dans la plante lorsque l'équilibre métabolique de celle-ci perturbé par les conditions défavorables du milieu et peut varier d'une plante à une autre **(Levitt,1980)**. La teneur de proline augmente en fonction du temps de l'exposition et de la concentration des polluants, ceci peut s'expliquer par un stress lié à l'exposition de ces plantes à la pollution atmosphérique, ce qui confirme l'importance de la proline dans la révélation d'un état de stress et de perturbation.

L'élément indicateur principal d'un effet de stress chez le végétal est l'augmentation du taux de proline. Dans les deux parties de notre travail, nous avons mis en évidence une augmentation significative du taux de proline chez les lichens transplantés. La proline peut jouer un rôle osmoprotecteur **(Paleg et al., 1984 ; Delauney et Verma, 1993)**, stabilisateur des protéines **(Kuznestov et Sheveyakova, 1997, Shah et Dubey, 1998)**, inhibiteur des métaux **(Farago et Mullen, 1979)** et inhibiteur de la peroxydation **(Mehta et Gaur, 1999)**.

Cette augmentation du taux de proline peut être expliquée selon **(Ober et Sharp, 1994)**, par un effet de stress chez la plante. La synthèse de la proline peut impliquer également un allègement de l'acidification du cytoplasme qui permet de maintenir le rapport (NADP/NADPH) à une valeur compatible à celle du métabolisme **(Hare et Cress, 1997)**. Selon **(Monneveux et Nemmar, 1986)**, l'accumulation de proline est associée à la résistance de la plante au stress, ce qui pourrait donc être l'un des facteurs qui expliquent le mieux la stratégie d'adaptation des plantes.

Lagadic et al.,(1997) affirment qu'une augmentation de la proline peut être observée si les plantes sont soumises au stress oxydatif crée par la pollution atmosphérique. Pour la plupart des polluants (SO_2 , NO_x et O_3etc), les symptômes de leur effets comprennent des changements de concentration de certains composés (acides aminés) **Monneveux (1989)** a montré que l'accumulation de la proline est un phénomène d'adaptation à la sécheresse. Elle permet à la plante de maintenir sa turgescence par la diminution du potentiel hydrique. C'est une forme d'ajustement de son potentiel osmotique.

Pour confirmer ce stress en milieu pollué (partie I et II), nous nous sommes intéressés aux variations du taux de protéines totales chez les deux espèces de lichens. En effet, selon **(Sandermann, 1992 ; Salt et al., 1995)**, en présence de xénobiotiques, la plante augmente la synthèse protéique en particulier des phytochélatines dont le rôle est la détoxification des xénobiotiques, particulièrement les métaux. **(Stalt et al., 2003)** rapportent que près de 80% du xénobiotique est détoxifié par ce type de protéines.

Ce qui concordent avec nos résultats qui montrent une augmentation du taux de protéine totales dans les thalles lichéniques des 2 espèces (*Ramalina farinacea* et *Xanthoria parietina*) ; cette augmentation est significative au niveau des échantillons prélevés sur les différents sites ce qui montre l'état critique du site 1 de la partie I (EL-Bouni) .

Selon **(Zienk, 1996)**, l'augmentation du taux des protéines dans les feuilles des roseaux placés dans une eau polluée est due au fait qu'au niveau cellulaire des réactions de détoxification ont lieu grâce aux phytochélatines. Ceci induit la formation d'un complexe protéine/ métal. Les phytochélatines piègent le xénobiotique et/ ou le métal en association à un groupe SH (sulfhydryle), il se forme un complexe thiolate métal qui devient immédiatement inactif. Cette réaction rend le métal inactif et permet son stockage dans les vacuoles **(Vogeli et al., 1990 ; Ortiz et al., 1992)**. L'augmentation de la synthèse de phytochélatines et d'enzymes de détoxification, pourrait expliquer dans notre cas l'augmentation du taux de protéines totales que nous avons mis en évidence.

L'autre élément indicateur d'un effet perturbateur du au stress chez les végétaux, est l'augmentation des teneurs des sucres totaux.

Selon **Deraissac (1992)**, le processus de concentrations des sucres totaux et /ou de la proline dans les tissus foliaires des végétaux stressées est reconnu comme une caractéristique d'adaptation. Ce stress est du à une pollution atmosphérique.

Dans la première partie de transplantation, nos résultats montrent qu'au fur et à mesure qu'on s'éloigne du complexe **Fertial**, le taux des sucres à tendance à augmenter, ce qui sous-entend par la suite une perturbation du processus photosynthétique chez l'espèce **Ramalina farinacea** au niveau des zones contaminées (plus le site est pollué, plus le taux des sucres totaux est élevé).

Ce qui confirme que le taux des sucres totaux varie suivant l'éloignement par rapport à la source de pollution, de la nature de l'espèce végétale, son stade végétatif et sa morphologie (**Bedeneau,1980**).

Le rapport MF/MS constitue une bonne indication de l'état de la qualité de l'air, plus l'air est pollué, plus le développement du végétal est perturbé. Ainsi le rapport MF/MS dans les zones polluées va être inférieur à celui enregistré au niveau de la zone de pollution moindre (**Semadi,1989**).

D'après nos résultats sur le rapport matière fraîche /matière sèche au niveau des différents sites d'études, nous pouvons conclure que les sites représentant un rapport faible par rapport au témoin, plus précisément au niveau du site 1(El-Bouni)(Partie I).

La proportion de matière fraîche par rapport à la matière sèche (MF/MS) diminue avec l'éloignement de la source de pollution a été déterminé par plusieurs auteurs **Woodbury et Hudler,1994**;ce qui confirme nos résultats de la partie I.

Ces diminutions peuvent être dues à des dommages des tissus du matériel végétal (lichens) ce qui conduit à des flétrissements et des dessèchement des thalles ou bien une perte d'eau (**Sharma, 2009 ; Anonyme,1994**).

La pollution atmosphérique peut causer des dommages sur les végétaux et implique la diminution du poids frais et sec (**Braun et Fluckiger,1985**). En effet, **Chakhparonia (1995)**, a montré chez *Arabidopsis thaliana* soumises à la pollution atmosphérique une diminution du poids frais et sec.

Concernant la première partie de transplantation, nous remarquons qu'au fur et à mesure qu'on s'éloigne de la source de pollution (Usine Fertial), le rapport MF/MS chez l'espèce **Ramalina farinacea** diminue d'où une bonne indication de la qualité de l'air à l'aide de ce rapport. Ce rapport diminue , car les zones très proches de l'usine (**400 et 800m**) sont moins risqués d'avoir les retombés des polluants par rapport aux zones plus éloignés (**1200 ,1600 et 2000m**).

Les mêmes résultats ont été constaté dans la 2^{ème} partie de transplantation où le site le plus pollué (site 2 El-Bouni) présente le rapport MF/MS le moins élevé.

Chez *Xanthoria parietina*, le rapport MF/MS semble plus sensible aux zones polluées par rapport à **Ramalina farinacea**, ce ci est sans doute dû à la résistance des thalles de **Ramlina** à la pollution par contre pour *Xanthoria* ce rapport semble être un très bon indice pour cette pollution.

L'induction des enzymes de détoxification des végétaux sous des conditions de stress est souvent rapportée (**Nimptsch et Pflugmacher, 2007**). Les cellules végétales sont capables de protéger leur vie par l'utilisation des mécanismes enzymatiques et non enzymatiques : **SOD, CAT, Peroxydases (APX et GPX) et glutathion (GST et GR) (Apel et Hirt, 2004)**.

Le glutathion est un peptide faisant partie d'un système enzymatique complet comprenant notamment la GST et jouant un rôle central dans le mécanisme d'élimination du peroxyde d'hydrogène, aussi que la prise en charge des lipides peroxydés, en plus des phytochélatines qui servent à séquestrer les métaux. Le glutathion réduit (GSH) est utilisé aussi comme donneur d'électrons pour la production de l'enzyme clé du système qui est la glutathion peroxydase (**Green et al., 2002**). Ainsi, nous avons mis en évidence une diminution du taux de GSH pour les échantillons transplantés au niveau des sites situés approximative de la source de pollution. Ce résultat concorde avec ceux de (**Fabrizio et al., 2003**) qui ont montré une diminution du taux de glutathion lors d'un stress au Cadmium chez les roseaux *Phragmites australis*, aussi que ceux de (**Kamara et Pflugmacher, 2006**), sur deux espèces *Phragmites australis* et *Querus robur* planté dans des zones polluées.

Contrairement aux résultats précédents, le site 3 de la première transplantation (2008 et 2009) présente une activité maximale de biomarqueur GST, par la suite des diminutions parallèles au niveau du site 4 et 5. D'après ces résultats, nous pouvons constater que le site 3 est le site le plus pollué.

L'induction du système enzymatique GST peut être expliquée par l'entrée de Xénobiotique dans les cellules végétales (lichens) et le déclenchement du système de détoxification (Lagadic et al., 1997).

Nos résultats concordent avec ceux obtenus avec Dazy et al., (2008), où ils ont constaté des activités maximales de GST et une baisse importante du taux de GSH chez les échantillons exposés à une forte pollution.

D'une manière générale certains composés comme le glutathion, ascorbate et acides aminés subissent des changements de concentrations vis-à-vis de la pollution. (May et Leaver, 1993 ; Bender et al., 1994 ; Holopainen et al., 1994 et Ekeberg et al., 1995).

Nous avons procédé au dosage des teneurs moyennes en chlorophylle a et b, et chlorophylle totale (a+b), paramètres susceptibles de nous indiquer un éventuel stress, car considérées comme bio marqueur de la toxicité des végétaux puisque des corrélations entre les densités cellulaires et les paramètres de la fluorescence photosynthétiques ont prouvé que ces dernières pouvaient être considérées comme bio marqueur de la toxicité dans le cadre de la pollution environnementale (Dewez et al., 2007).

Le métabolisme de la chlorophylle est certainement le processus biochimique le plus visible chez les végétaux. Sa biosynthèse laisse apparaître la couleur verte des plantes ; tandis que sa dégradation se manifeste par la perte du pigment (Folly, 2000).

D'après nos résultats, nous avons observé une nette variation de la chlorophylle en fonction des différents sites choisis (Partie I et II). Ces variations peuvent être associées à des changements dans le cycle de vie du végétal (Folly, 2000 ; Garty et al., 2001).

Il est connu que tous les polluants gazeux pénètrent par les stomates vers les espaces intercellulaires. Ils peuvent changer la conductance stomatale directement en affectant les cellules de gardes, ce qui altère la photosynthèse chez les plantes supérieures. (Shumacker et Hallet, 1997).

Quoi pour les lichens qui ne possèdent pas un système de régulation des entrées et des sorties ?

Les résultats des expériences menées par (Knudson et al., 1977 ; Bechulal et Ambasht, 1980 ; Renaud et al., 1998 ; Tretiach et al., 2007), suggèrent que les plantes soumises à la pollution atmosphérique présentent des changements du taux des chlorophylles. Ce qui confirme nos résultats (Partie I et II).

D'après (Déruelle et Lallement, 1983), une perturbation de la photosynthèse semble due à une modification de la chlorophylle résultant d'un déplacement des ions Mg des molécules de la chlorophylle par un polluant. Nos résultats sont en parfait accord avec ces travaux parce qu'ils ont montré une atténuation de l'activité photosynthétique qui se traduit par une augmentation maximale des teneurs en chlorophylle observée au niveau des sites les plus pollués (Partie I, site 3).

Pour ce qui est nos échantillons de lichens prélevés après transplantation, nous avons remarqué que les taux de la chlorophylle ne sont pas tellement liés à la distance par rapport à la source polluante (Partie II, site 1 et 2). Ceci est probablement dû à d'autres facteurs environnementaux et d'autres facteurs physiologiques qui interfèrent par contre dans des conditions contrôlées où le seul facteur qui varie est le taux de pollution, la variation de la teneur en chlorophylle a été nette (le site 3 présente le taux de chlorophylle le plus élevé).

Les résultats obtenus montrent une stimulation du taux de chlorophylle (*a*, *b* et *a+b*) chez les plantes transplantés au niveau des sites pollués. Cette augmentation pourrait traduire une stimulation de la photosynthèse par la suite et peut être également expliquée, par les besoins en précurseurs pour la synthèse de certains polypeptides spécifiques (phytochélatines) via la photo-respiration (Israr et al., 2006).

Nos résultats ne semblent pas concorder avec ceux de (Puritch et Barcker, 1967) qui mettent en évidence un effet toxique de l'ammonium sur la synthèse des chlorophylles de même qu'une perturbation de l'aspect morphologique externe et interne des chloroplastes des feuilles de *Lycopersicon esculentum* qui apparaissent suite au traitement à l'ammonium. D'autres travaux, (Havaux, 1988 ; Djekoun et Yakhlef, 1996) montrent une réduction de la photosynthèse, suite à

une sécheresse. Cette réduction de la photosynthèse est liée, d'une part à la fermeture des stomates (**Johnson et al., 1984**), ce qui concorde avec nos résultats de la première partie de transplantation où le site le plus pollué présente une réduction du taux de la chlorophylle.

En revanche, les résultats obtenus dans notre travail concordent beaucoup plus avec ceux de (**Israr et al., 2006**), qui rapporte un effet stimulateur du cadmium sur la teneur en chlorophylle. Nos résultats sont en accord aussi avec les constatations de (**Brown et Whithead, 1986**), portant sur la sensibilité de la photosynthèse et la teneur en chlorophylle dans des conditions de pollution mercurielle.

Concernant les végétaux supérieurs, le mécanisme de l'action nocive des polluants sur la végétation est complexe et dépendant, d'une part, des caractères anatomiques et physiologiques des plantes et d'autre part, de la nature physico-chimique des polluants.

La plus importante des voies de l'action nocive consiste dans la pénétration des polluants dans les organes de la respiration végétale représentés par les stomates des feuilles. Les stomates étant situées sur la partie inférieure des feuilles par où les gaz toxiques entrent en même temps que l'air (l'ozone par exemple), on distingue la diminution de :

- ✓ la photosynthèse ;
- ✓ l'ouverture des stomates ;
- ✓ l'efficacité de l'eau ;
- ✓ la surface foliaire ;
- ✓ la respiration des racines, augmentation pour la partie supérieure ;
- ✓ la production de matière sèche et des rendements (**Israr et al., 2006**).

Concernant la respiration, nous avons remarqué que la transplantation des échantillons de lichens au niveau des différents sites choisis et dans les deux parties, stimule l'activité respiratoire. Cette augmentation de l'intensité respiratoire des lichens est due à l'absorption des différentes substances et polluants atmosphériques que contient l'air.

Selon les travaux de (**Bensoltane, 2005 ; Khaldi, 2003**), la pénétration des xénobiotiques à l'intérieur des lichens serait à l'origine du déclenchement des phénomènes de détoxification/biodégradation, ce phénomène fait appel aux oxygénases à cytochromes P450, d'où cette avidité pour l'O₂ traduite par la stimulation respiratoire observée. Cependant et contrairement à nos résultats, il n'est pas toujours vrai ou évident, qu'un xénobiotique, entraîne une stimulation de l'intensité respiratoire (IR), ce même xénobiotique pourrait perturber le métabolisme respiratoire (**Sbartai, 2008**). L'un des mécanismes de défense contre les phénomènes de pollution chez les végétaux supérieurs, c'est au contraire une diminution de l'activité respiratoire.

Le métabolisme photosynthétique suit des fluctuations au niveau des différents sites (pollués et non pollués). A de fortes niveaux de pollution atmosphérique et selon la distance des sites par rapport aux sources de pollution, la photosynthèse reste active et toujours supérieure à celle du témoin (partie I). Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par (**Israr et al., 2006**).

Contrairement aux résultats de la partie II, où on constate une diminution de la photosynthèse des échantillons transplantés au niveau des différents sites par rapport aux échantillons témoins. Il est connu que les photosynthétats frais ont une influence bien plus nette sur le métabolisme énergétique que les photosynthétats de réserve (**Leclerc, 1999**). Ainsi, les fluctuations observées dans notre travail pourraient expliquer par deux hypothèses :

- Soit le xénobiotique (polluant atmosphérique) affecte un composé lumière-dépendant relié à la photosynthèse ;
- Soit l'un des photosynthétats frais joueraient un rôle dans la tolérance des plantes aux polluants et confère ainsi à la lumière une protection relative (**Israr et al., 2006**).

D'après **Couach et al.,(1999)**, lorsque les poussières se déposent sur les feuilles, elles forment écran entre les rayons lumineux et la feuille proprement dites et il peut s'ensuivre une modification de l'assimilation chlorophyllienne. Lorsque les poussières sont acides, les points de contact avec les cellules de fleurs et des feuilles peuvent être le siège de nécroses locales, réparties sur la face supérieure des feuilles et une perturbation de la photosynthèse, qui entraîne une dégénérescence et une diminution de la croissance.

D'autres travaux (**Kiss et al. ,2003 ; Kuciel et Mazurkiewicz, 2004**), ont expliqué l'inhibition des deux processus physiologiques : la respiration et la photosynthèse par la présence des ROS ,pourraient agir sur les organites subcellulaires tels que les mitochondries et chloroplastes .Cette inhibition serait la conséquence d'un couplage de la phosphorylation oxydative chez les mitochondries et photo-péroxydation des lipides membranaires chez les chloroplastes.

En conclusion,

Le suivi spatial de l'accumulation des NOx par les lichens récoltés *in situ* a permis d'établir que l'usine de **FERTIAL** était une source polluante détectée par les lichens. Ainsi, il apparaît que les deux espèces de lichens :***Ramalina farinacea*** et ***Xanthoria parietina*** s'adaptent parfaitement aux conditions les plus extrêmes en déclenchant des phénomènes métaboliques adéquats.

Enfin, la pollution de l'air peut être suivie de modifications métaboliques de système qui affectent certaines fonctions de métabolites (proline, protéines et sucres),des enzymes, des hormones (auxine), et même des vitamines ou oligo-éléments, qui ont pour conséquence des modifications dans l'aspect morphologique et fonctionnel de la plante. Une de ces manifestations consiste dans le phénomène de chlorose, déviation de la formation du pigment principal de la photosynthèse, la chlorophylle, ayant comme suite des troubles complexes d'aspect et de développement entraînant une production avec rendement réduit et les lésions partielles ou totales (**Chovin et Roussel,1973**).

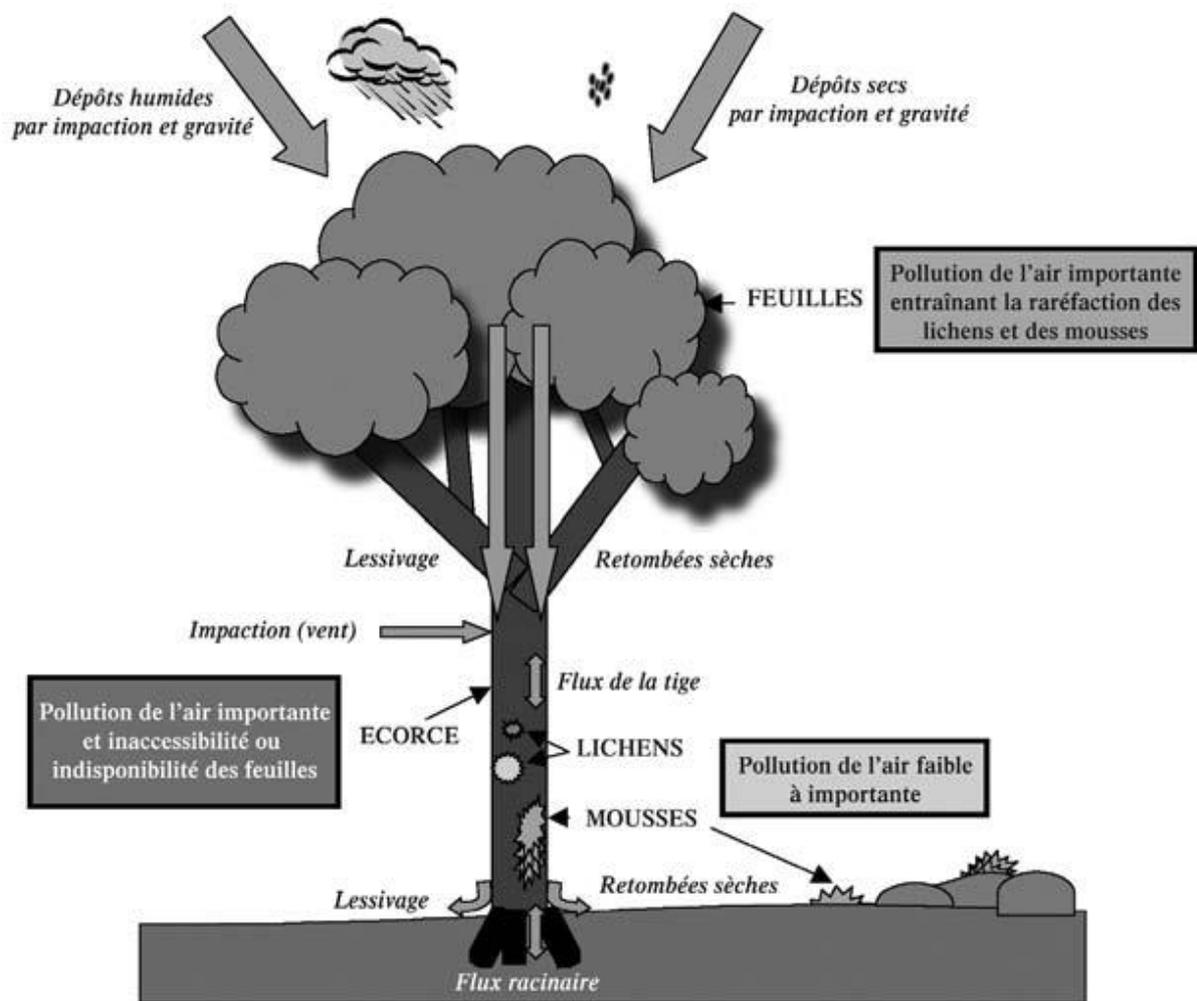


Figure 96. Présentation schématique des taxons bioaccumulateurs des polluants et des paramètres régissant les phénomènes d'accumulation (illustration inspirée des schémas de Bargali et Mikhailova, 2002).

CONCLUSION GENERALE

Cette présente étude montre le rôle important que joue le système de défense dans l'accumulation et la tolérance aux polluants chimiques :

- engrais (NPKs) chez les deux espèces végétales choisies (mousses et lichens).
- NOx et poussières chez les lichens uniquement.

Au terme de ce travail, nous nous proposons de faire le bilan de nos différentes expérimentations et surtout d'expliquer les perspectives de recherche qu'elles permettent d'entrevoir.

Les engrais azotés apportent de nombreux avantages pour la culture des plantes et ceux-ci sont de plus en plus utilisés dans le milieu agricole malgré les dangers qu'ils représentent.

Pour limiter ces conséquences écologiques et sanitaires néfastes, le ministère de l'environnement Algérien doit prendre des mesures telles que :

- ❖ La référence aux normes qui fixent le seuil à ne pas dépasser ;
- ❖ La limitation des rejets de poussières d'engrais dans l'environnement ;
- ❖ Conduire une politique de réduction à la source effluents liquides issus de l'industrie des composés azotés ;
- ❖ L'établissement d'un plan de fertilisation et l'enregistrement des apports effectués ;
- ❖ Le respect de période d'interdiction d'épandage des fertilisants azotés ;
- ❖ Des restrictions d'épandage à proximité des eaux de surface, sur sol en forte pente, détrempés, inondés, gelés ou enneigés ;
- ❖ La modification des techniques culturales pour ajuster au mieux les applications d'engrais à la demande azotée des cultures (nouveaux itinéraires techniques).

Nous avons conduit une étude très large, en envisageant les effets néfastes sur deux modèles biologiques (Mousses et Lichens) d'un engrais complexe (NPKs). L'utilisation de cet engrais est toujours d'actualité dans la plupart des régions agricoles, il faut alors se rappeler que la toxicité des engrais aux doses auxquelles peuvent être soumis des organismes végétaux (inférieurs en particulier), est à l'origine de nombreuses hypothèses et de peu de vérifications.

Nous nous sommes donc proposés de vérifier cette toxicité à travers ces végétaux, avec l'ambition de chercher à comprendre par quels mécanismes l'engrais et les polluants atmosphériques (NOx et poussières) pouvaient exercer des conséquences délétères sur le comportement de ces espèces végétales lorsqu'ils sont exposés à court (3 jours) et à moyen (7 jours et un mois pour les transplants) terme ou de mettre en relation dose/effet sur des espèces bioindicatrices à travers la mesure de biomarqueurs biochimiques et enzymatiques du stress oxydant, pouvant indiquer des lésions ou des dysfonctionnement physiologiques.

Dans la première partie de notre expérimentation concernant la mise en évidence de l'effet de l'engrais (NPKs) sur les mousses et les lichens par un traitement de 3 et 7 jours, les principaux résultats obtenus sont :

- Augmentation des taux de : proline, sucres et protéines totales ;
- Perturbations dans les taux des chlorophylles (*a*, *b* et *a+b*) ainsi qu'au niveau des processus métaboliques (photosynthèse et respiration) ;
- Activation des biomarqueurs enzymatiques (GST, APX et CAT) et non enzymatiques (GSH et MDA) contre un stress oxydatif ;

Du fait de la complexité des effets toxiques de cet xénobiotique (NPKs) au laboratoire, nous avons été amené à envisager une étude sur terrain, et ce pour les lichens uniquement, dans le but d'apporter notre contribution sur l'utilisation de ces végétaux comme bioindicateurs de pollution.

Les principaux résultats obtenus sont :

- Augmentation des taux de : Proline, protéines et sucres totales.
- Diminution des taux MF/MS.
- Activation des systèmes de détoxification (diminution de GSH et augmentation de GST);
- Perturbations des teneurs en chlorophylles (*a*, *b* et (*a+b*)); ainsi qu'au niveau des processus métaboliques (photosynthèse et respiration) .

L'utilisation des végétaux bio-indicateurs pour la détection (bio-indication), la protection (bio-accumulation) et la compréhension (mécanismes d'action) des effets d'agents toxiques rejetés dans l'environnement est un acquis non négligeable qui permet à la fois une célérité pour le sauvegarde de notre environnement, mais aussi et grâce à l'association de techniques appropriées (la polarographie dans notre travail), nous a permis d'expliquer certains phénomènes biochimiques tels que la relation pouvant exister entre la perturbation de la consommation d'oxygène et le xénobiotique.

La dégradation du tissu végétal et la disparition de certaines espèces de notre environnement, s'explique par la perturbation de la respiration et de la photosynthèse des mousses et des lichens de même que toutes les modifications biochimiques physiologiques et enzymatiques observées chez les espèces choisies dans notre travail et que l'on peut aisément extrapoler aux végétaux supérieurs.



Perspectives

En perspectives, il serait fort intéressant de :

- Tester la toxicité de **NPKs** sur d'autres modèles biologiques ;
- D'effectuer des dosages des autres enzymes impliquées dans la métabolisation /détoxification et particulièrement : GPX et SOD chez ces végétaux (mousses et lichens) ;
- D'entamer une étude ultra-structurale de nos modèles biologiques en présence ou non du polluant ;
- Tester la résistance des lichens vis-à-vis des autres sources de pollution (exp :ETM) à travers leur transplantation aux alentours du complexe Arcelor Meetal d'El-Hadjar.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFL. (1991).** Association Française de Lichénologie : Problèmes actuels posés par la bioindicateurs lichénique, mémoire AFC1 colloque organise à lille par C.Van Haluwyn et B.Foucault :102 pages.
- Ah-PengC.(2003).**Mise au point d'un outil diagnostique basé sur l'utilisation de la mousse aquatique *Fontinalis antipyretica* Hedw. en culture pour l'estimation de la qualité des cours d'eau. DRT, Université de Lille 2, 178 pp.
- Alia, Prasad ,K.V.S.K.,Pardha Saradhi P.(1995).** Effect of zinc on free radical and proline in *Brassica juncea* and *Cajanus cajan*. *Phytochemistry* 39,45-47.
- Alia, Pardha Saradhi P. (1991).** Proline accumulation under heavy metal stress .*J.Plant Physiol.*138:554-558.
- Amblard-Gross G., Féraud J.F., Carrot F., Bonnin-Mosbah M., Maul S., Ducruet J.M., Coddeville P., Béguinel P. et Ayrault S. (2002).** Biological fluxes conversion and SXRF experiment with a new active biomonitoring tool for atmospheric metals and trace element deposition, *Environmental Pollution*, 120, p. 47-58.
- Anderson M E; (1985).** Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Method. Enzymol.*113: 548-554.
- Anonyme (1994).** Effets de la pollution automobile sur les végétaux à proximité du périphérique de la ville de Paris. Direction des parcs, jardins et espaces verts. Rapport bibliographique et expérimental : 128p.
- Arnon DI. (1949).** Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*.*Plant physiology* 24 :1-15.
- Apel K and Hirt H. (2004).** Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 373–399.
- Arndt U, Nobel W et Schweiber B. (1987).** Bioindikatoren Möglichkeiten, Grenzen und neue Erkenntnisse, Ulmer,Stuttgart. b,p:314.
- Arnold F. (1891-1901).** Zur Lichenenflora von München. *Ber Bayer. Bot.Ges.*,1,1891:1-143; 2,1892:1-76;5,1897:1-82;8,1901:1-5.
- Arrigoni O. (1994).** Ascorbate system in plant development. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 26:407-419.
- Asada K . and Takahashi M . (1987).** Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. In: Kyle DJ, Osmond CJ, Arntzen CJ(Eds), *Photo inhibition: topics in Photosynthesis* .Elsevier , Amsterdam.:227-231.
- Asta J.(1980).** Flore et végétation des Alpes nord-occidentales: écologie ,biogéographie, écophysologie, bio-détection de la pollution fluorée-Grenoble :Université scientifique et médicale.Thèse de Doctorat, 249p.

Asta J.(1993). Les lichens, indicateurs de pollution atmosphérique dans la région Rhone Alpes.Les lichens bioindicateurs de la qualité de l'air. Bull.As.Fr.Lich. Mémoires n°2 : 71-84.

Asta J,Erhardt w,Ferretti M,Fornasier F,Kirschbaum U,Nimis PL,Purvis OW,Printsos S,Scheidegger C, Van Haluyn C,Wirth V(2002). Mapping lichen diversity as an indicator of environmental quality .In:Nimis PL,Scheidegger C,Wolesely PA.*Monitoring with lichens-Monitoring lichens*.Kluwer,The Netherlands,273-279.

Baisak R, Rana D, Acharya PBB, Kar M. (1994). Alteration in activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stress. *Cell Physiol.* 35, p. 489–459.

Bardat J. & Boudier P. (2002). Ecologie des bryophytes: phytosociologie, mésologie et dynamique. Sallanches, Centre de la Nature montagnarde, Château des Rubins.

Bargali R. (1998a). Mosses as passive and active monitors of trace elements.In Bargali R. Trace elements in terrestrial plants. An ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery. Springer, Berlin,207-236.

Bargali R.(1998b). Lichens as biomonitors of airborne trace elements.In Bargali R. Trace elements in terrestrial plants. An ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery. Springer, Berlin,179-206.

Bargali R, Mikhailova I .(2002). Bioaccumulation of inorganic compounds.In : Nimis PL,Scheidegger C,Wolesely PA.*Monitoring with lichens-Monitoring lichens*. Kluwer,The Netherlands,65-84.

Barneau M et Ursu P. (1974). Pollution et protection del'atmosphère.Ed.eyrolles.Paris.197p.

Becana M, Moran JF , Iturbe-Ormaetxe I. (1998). Iron-dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. *Plant Soil* **201**, p. 137–147.

Bechulal A. and Ambasht R.S. (1980). Effects of cement dust pollution on plants of *Psidium guayava*. Indian J. Environ. Hlth 22(3): 231-237.

Beckett R.P. (1984). The relationship between cadmium uptake and heavy metal tolerance in the lichen genus *Peltigera*. The new phitologist 92: 301-311.

Bedeneau N. (1980). Evolution des caractères morphologiques, anatomiques et biochimiques de quelques lichens subsistants en milieu forestier pollué. Thèse Univ. Orléans,120p.

Beeby A. (2001). What do sentinels stand for? *Environmental Pollution* 112: 285-298.

Belandria G et Asta J. (1986). Les lichens bio indicateurs : la pollution acide dans la région lyonnaise. Poll. Atm 109 :10-23.

Belandria G, Asta J. and Garrec J.P. (1991). Diminutions of fluorine contents in lichens due to a regression of pollution in an Alpine Valley (Maurienne, Savoie, France) from 1975 to 1985.Rev. Ecol. Alp., Grenoble,tome I, p. 45-58.

Belegaud J. (1982). L'azote et ses derives. Introduction Encyclopédie-Médico Chirurgicale.Paris(France)16002 ; A 50 :50-53.

Bellinger Y, Bensaoud A et Larher F. (1989). Physiologie breeding of winter cereals for stress environments. *Colloque, N°3, Montpellier, France*.

Bender J, Weigel .H. J, Wegner. U and Japer .H.J . (1994) . Response of antioxidants to ozone in wheat flag leaves at different stages of plant development. *Environmental pollution* 84 :15-21.

Bensoltane S, Khaldi F, Djebbar H and Djebbar M.R . (2005) .Toxicity of the ammonium nitrate NH_4NO_3 on the respiratory metabolism of three biological models : *parmeciums*, mosses and lichens. Comm.Appl.Biol.Sci,Ghent University,70/4 :1043-1051.

- Bensoltane S.(2007).** Evaluation de la toxicité du nitrate d'ammonium (NH₄NO₃) sur différents modèles biologiques: Mammifères, Végétaux, et Protistes ciliés. *Thèse de doctorat d'état en Eco toxicologie Animale. Université d'Annaba.* 153p.
- Bergamaschi L., Rizzio E., Giaveri G., Loppi S. et Gallorini M.(2007).** Comparison between the accumulation capacity of four lichen species transplanted to a urban site, *Environmental Pollution*,148,P.468-476.
- Bergmeyer U. (1974).** Methods of enzymatic analysis Ed.Verlag. Chimie G mb H.Weinkein.Vol 1,494-495 et 684-690.
- Bigal K.L, Ashmore M.R , Headley A. (2008) .** Effects of air pollution from road transport on growth and physiology of six transplanted bryophyte species. *Environmental Pollution* 156:332-340.
- Blandin P. (1986).** Bioindicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. *Bull. Ecol.*17-4, p: 215-307.
- Bouwer H.(1990).** Agricultural chemicals and groundwater quality. *Journal of Soil and Water Conservation*,45(2):184-189.
- Bradford M M. (1976) .** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal.Biochem.*72:248-254.
- Branquinho C and Brown O.H. (1994).** A method for studying the cellular location of lead in lichens. *Lichenologist* 26(1):83-90.
- Braun S. and Fluckiger W.(1985).** Increased population of the aphid pomi at a motorway: Part 3-the effect of exhaust gases. *Environmental Pollution* 39: 183-192.
- Brodo I.M. (1961).**Transplant experiments with corticolous lichens using a new technique. *Ecology*,42:838-841.
- Brown DH. and Beckett R.P. (1983).** Differential sensitivity of lichens to heavy metals. *Annals of Botany* 52: 51-57.
- Brown DH. et Whithead A .(1986).** The effect of mercury on the physiology of *Rhytidiadelphus squarrosus* (Hedw) warnst. *University of Bistol.J.,Bryol*14:367-374.
- Brunialti G. & Frati L. (2007).** Biomonitoring of nine elements by the lichen *Xanthoria parietina* in Adriatic Italy: a retrospective study over a 7-year time span, *The Science of the Total Environment*, 387,p :289-300.
- Cakmak I et Horst W.J. (1991).** Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (glycine max).*Physiol.Plant* 83:463-468.
- Camargo J.A and Alonso A. (2006).** (Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic-ecosystem:Aglobal assessment.*Environ.Interna.*32:831-849.
- Cao X, Ma L.Q., Tu C.(2004).** Antioxydative reponses to arsenic in the arsenic hyperaccumulator Chinese brake fern environ.Pollut. 128, 317-325.
- Cao T, Ni L.Y and Xie, P. (2004).** Acute biochemical responses of a submersed macrophyte, *Potamogeton crispus* L., to high ammonium in an aquarium experiment. *J. Freshwater Ecol.* 19, 279-284.
- Cape J.N, Leith L.D ,Fowler D,Murray M.B,Sheppard L.J,Eamus D,Wilson R.H.F.(1991).**Sulfate and ammonium in mist impair the frost hardening of red spruce seedlings.*The new physiologist* .118:119-126.
- Cape J.N, Vander Eerden L.J, Sheppard L.J, Leith I.P and Sutton M.A. (2009).** Evidence for changing the critical level for ammonia.*Environmental Pollution* 157:1033-1037.
- Carceller J. (1995).** Proline and the export of N.compounds from senescing leaves of maize under water stress.*INRA,interdrought*,1-5.
- Castello, M., Nimis, P.L., Cebulec, E., Mosca, R.(1995).** Air quality assessment by lichens as bioindicators of SO₂ and bioaccumulation of heavy metals in the province of Trieste (NE Italy). In: Lorenzini, G., Soldatini, G.F. (Eds.), *Responses of Plants to Air Pollution. Agricoltura Mediterranea*, special number, pp. 233-243.

- Caviglia A.M and Modensi P.(1999).** Oxidative stress and ascorbic acid contents in *Parmotrema reticulatum* and *Parmelia sulcata* thalli. *Lichenologist* 31(1):105-110.
- Chaillou S., Morot-Gaudry JF., Salsac L., Lesaint C., Jolivet E. (1986).** Compared effects of NO_3^- and NH_4^+ on growth and metabolism of French bean. *Physiol. Vég.* 24, p. 679–687.
- Chaillou S., Vessey JK., Morot-Gaudry JF., Raper CD., Henry LT., Boutin JP. (1991).** Expression of characteristics of ammonium nutrition as affected by pH of the root medium. *J. Exp. Bot.* 42, p. 189–196.
- Chaillou S., Lamaze T. (1997).** Assimilation de l'azote chez les plantes. Jean-Francois Morot-Gaudry (ed). p. 67–83.
- Chakhparonia M.(1995).** Développement d'un système biologique de surveillance de la pollution atmosphérique : études sur des populations d'*Arabidopsis thaliana* sous conditions contrôlées. Thèse de doctorat, Université Lausanne : 81 pages.
- Chambers PA., Guy M., Roberts E., Charlton MN., Kent R., Gagnon C., Grove G. et Foster N. (2001).** Les éléments nutritifs et leurs effets sur l'environnement. Agriculture et Agroalimentaire, Environnement Canada, Pêches et Océans Canada, Santé Canada et Ressources naturelles Canada, Ottawa.
- Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M.H., El Ferjani, E. (1997).** Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Sci.* 127, 139–147.
- Cheverry C . (1992).** Les pollutions sur le terrain : l'exemple de la Bretagne. C.R. Academy of agriculture, France. 78 :57-64.
- Cho U.H & Park J.O.(2000).** Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings. *Plant Science* 156 :1-9.
- Chovin P et Roussel A. (1973).** Physico-chimie et physiopathologie des polluants. Ed. Masson. Paris. 375p.
- Chrétien J, Concaret J et Mere C.(1974).** Evolution des teneurs des nitrates dans les eaux d'alimentation. *Annls of Agronomy* .25 :499-513.
- Cislaghi C , Braga M, Nimis PL . (1996).** Methodological aspects of an ecological study on association between two biological indicators. *Statistica Applicata*, 8: 214-227.
- Cislaghi C et Nimis PL. (1997).** Lichens, air pollution and lung cancer. *Nature*, 387 : 463-464.
- Couach O, Besson C, Kuebler J, Martilli A, Perego S, Sathya V, Kirchner F et Dagneli P. (1999).** Statistique théorique et appliquée. Tome 2. Inférence statistique à une et à deux dimensions. Univ. De Boeck et Larcier. Bruxelles. 659p.
- Cramer MD , Lewis OAM. (1993).** The influence of NO_3^- and NH_4^+ nutrition on the carbon and nitrogen partitioning characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays* L.) plants. *Plant Soil* 154, p. 289–300.
- Cuny D, Pignata ML, Kranner I, Beckett R .(2002).** Biomarkers of pollution-induced oxidative stress and membrane damage in lichens. In: Nimis PL, Scheidegger C, Wolesely PA. *Monitoring with lichens-Monitoring lichens*. Kluwer, The Netherlands, 97-110.
- Cuny D., Van Haluwyn C. et Pesch R. (2001).** Biomonitoring of trace elements in air and soil compartments along the major motorway in France, *Water, Air, and Soil Pollution*, 125, p. 273-289.
- Cusset G. (1997).** Botanique - les Embryophytes, D. Masson, 512 pp.
- Dagnelie P.(1999).** Statistiques théoriques et appliquées. Tome 2 : références statistiques à une et à deux dimensions. Bruxelles. Univ De BOECK et LARCIER, 659 p.

- Dalla Vecchia F ,La Rocca N,Moro I & De Faveri S.(2005).** Morphogenetic,ultrastructural and physiological suffered by submerged leaves of *Elodea Canadensis* exposed to cadmium. *Plant Science* 168:329-338.
- Dazy M, Masfaraud J.F et Férard J.F. (2009).** Induction of oxidative stress biomarkers associated with heavy metal stress in *Fontinalis antipyretica* Hedw.Elsevier. *Chemosphere* 75 : 297–302.
- Dazy M, Vincent Jung, Férard J-F et Masfaraud J-F. (2008).** Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: Role of plant antioxidant enzymes and possible implications in site restoration. *Chemosphere* 74 : 57–63
- Dazy M, Béraud E, Cotelle S, Meux E, Jean-François Masfaraud J.F et Férard J.F. (2008).** Antioxidant enzyme activities as affected by trivalent and hexavalent chromium species in *Fontinalis antipyretica* Hedw. *Chemosphere* 73 : 281–290.
- Delauney A.J, and Verma DPS. (1993).** Proline biosynthesis and osmoregulation in plant. 14: 215-223.
- Denayer FO. (2000).** Ecotoxicité des éléments-traces métalliques chez les bryophytes. Mise au point d'un biocapteur des retombées atmosphériques à l'aide de *Ceratodon purpureus* (Hew.) Bird. Thèse de Doctorat des sciences, Université de Metz, Lille.
- Deraissac M. (1992).** Mécanismes d'adaptation à la sécheresse et maintien de la productivité des plantes cultivées.Agr.Tropi.46.
- Déruelle S. et Guilloux F. (1993).** Evolution de la végétation lichénique en Région parisienne entre 1981 et 1991, en relation avec la qualité de l'air. *Bull. Inform. Ass. Fr. Lichén. Mémoires*, II :23-42.
- Déruelle S et Lallement R. (1983).** Les lichens témoins de la pollution. Thème Vuibert.Université Paris : 108pages..
- Déruelle S. (1996).** La fiabilité des lichens comme bioindicateurs de la pollution plombique.*Ecologie*,t.27(4):285-290.
- Déruelle S. (1983).** Ecologie des lichens de bassin Parisien. Impact de la pollution atmosphérique (Engrais,SO₂,Pb) et relations avec les facteurs climatiques. Thèse de Doctorat d'état, Université Pierre et Marie Curie, Paris :365pages.
- Déruelle S. (1984).** L'utilisation des lichens pour la détection et l'estimation de la pollution par le plomb. *Bull. Ecol.*t.15,1 :1-6.
- Des abbayes .(1978).** Précis de botanique, végétaux inférieurs,Ed .2,Masson,PP520-534.
- De Vos C.H.R, Bookum V.M.T, Vooijs R, Schat H and De Kok L.J.(1993).** Effect of copper on fatty acid composition and peroxidation of lipids in roots of copper tolerant and sensitive *Silene cucubalus*. *Plant. Physiol. Biochem.* 31(2): 151-158.
- Dewez T, Rohmer J. et Closset L. (2007) .** Laser survey and mechanical modeling of chalky sea cliff collapse in Normandy, France, in Mc Innes R., Jakeways J., Fairbanks H. et Mathie E., (eds) *Landslide and climate change*, Taylor and Francis, London, pp.281-288.
- DMI .(2004) .** Direction des mines et de l'industrie de la wilaya de Annaba.
- Djebar M.R . (1988).** Impact d'une fraction membranaire convertissant l'ACC en éthylène chez la pomme des effets de l'éthylène sur les mitochondries de la pomme de terre .Thèse de doctorat de l'université Pierre et Marie Curie.Paris VI :140 pages.
- Djebar M.R et Djebar H. (2000).** Bioénergétique, les mitochondries végétales. Synthèse. Publications de l'université d'ANNABA : 103pp.
- Djebar I et Fradja L. (1992).** Etude physiosociologique et systématique de la flore lichénique corticole du parc national d'El Kala. Mémoire d'ingénieur d'état en Ecologie et Environnement ,Université de Annaba.

- Diederich P. (1990)** . Les lichens épiphytiques et leurs champignons lichénicoles du Luxembourg, travaux scientifiques du muséum d'histoire naturelle du Grand-duché de Luxembourg : 268 pages
- Djekoun A. et Ykhlef N. (1996)**. Déficit hydrique, effets stomatiques et non-stomatiques et activité photosynthétique chez quelques génotypes de blé tétraploïdes. Dans : *3ème Réunion du Réseau SEWANA, de Blé Dur*, IAV Hassan II, 6-7 décembre 1996.
- Dobson F. (1992)** . Lichens, an illustrated guide, 3 rd rev. Edition, Richmond Publishing, England : 410 pages.
- Duchatelet L. (1994)** . La flore lichénique corticole de la ville d'Arras : relation avec la qualité de l'air. Thèse de doctorat de pharmacie, Lille : 310 pages.
- Ducercf G & Thiry G. (2003)**. Les plantes bio-indicatrices. Editions Promonature.
- Durcuix C, Junot C, Fiévert J.B, Villiers F, Ezan E and Bourguignon J. (2006)**. New insights into the régulation of phytochelation biosynthesis in *A.thaliana* cells from metabolite profiling analyses. *Biochimie* 88 :1733-1742.
- Dzybaj A, Bachor M, Tomko J, Peli E and Tuba Z. (2008)**. Tolerance of the lichen *Xanthoria parietina* (L.) Th.Fr. to metal stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 70:319-326.
- Ekeberg D, Jablonska A.M and Ogner G. (1995)**. Phytol as a possible indicator of ozone stress by *Picea* . *Environmental Pollution* 89: 55-58.
- Ellen G, Schuller P.L, Froeling P.G & Bruijns E. (1982)**. No volatile N-nitrosamines detected in blood and urine from patients ingesting daily large amounts of ammonium nitrate. *Food Chem Toxicol.* 20 (6):879-82.
- Fabrizio, P, A. Maria P.S, Pasqualini and Massacci A. (2003)** . Interaction of Cadmium with Glutathione and Photosynthesis in Developing Leaves and Chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. Ex Steudell., pp: 133.
- Farago, M.F., and Mullen, W.A. (1979)**. Plants with accumulate metals. Part IV. A possible copper-proline.
- Farago E.M.(1994)**. Plant and Chemical Elements : Biochemistry, Uptake, Tolerance and Toxicity Ed.VCH32-231.
- Fernandez J.A, Ederra A., Nunez E, Martinez-Abaigar J, Infante M., Heras P, Elias M.J, Mazimpaka V. et Carballeira A. (2002)**. Biomonitoring of metal deposition in northern Spain by moss analysis, *The Science of the Total Environment*, 300, p. 115-127.
- Festy B. (1999)**. La valeur sanitaire des seuils. *Air Pur*, 56 :17-21.
- Folly P. (2000)**. Catabolisme de la chlorophylle b : Structures, mécanismes et synthèses. Thèse de doctorat. Univ. Fribourg (Suisse). 185p.
- Fournier E.(1993)**. Toxicologie .Ed Ellypses :326-333.
- Foyer CH, Descourvières P, Kunert KJ. (1994a)**. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell. Env.* 17, p. 507–523.
- Foyer CH, Lelandais M, Kunert KJ. (1994b)**. Photooxidant stress in plants. *Physiol. Plant.* 92, p. 696–717.
- Freeman JL, Persans MW, Nieman K, Albrecht C, Peer W, Pickering I, Salt DE. (2004)**. Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators. *Plant Cell* 16: 2176-2191.
- Gailey F.A.Y, Smith G.H, Rintoul L.J and Lloyd O.LI. (1985)**. Metal deposition patterns in central Scotland as determined by lichen transplants. *Environmental Monitoring and Assessment* 5: 291-309.
- Gallego S.M, Benavides M.P and Tomaro M.L. (1996)**. Effect of heavy Metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of an oxidative stress. *Plant Sci* 121: 151- 159.
- Gallego S.M, Benavides M.P, Tomaro M.L. (2002)**. Involvement of antioxidant defense system in the adaptive response to heavy metal ions in *Helianthus annuus* L. cells. *Plant Growth Regul* 36: 267-273.

- Galsomiès L., Savanne D., Letrouit M.A., Ayrault S & Charre B. (1999).** Retombées atmosphériques métalliques de métaux en France : estimation par dosage dans des mousses-Campagne 1996-ADEME Editions ,Angers,Paris,187pp.
- Garty J. et Fuchs C.(1982).** Heavy metals in the lichen *Ramalina duriaei* transplanted in biomonitoring stations. *Water, Air and soil Pollution*17:175-183.
- Garty J, Karary Y and Harel J. (1993).** The impact of air pollution on the integrity of cell membranes and chlorophyll in the lichen *Ramalina duriaei* (De Not) . Bagl. Transplanted to industrial sites in Israël. *Arch . Environ. Contam. Toxicol.*24:455-460.
- Garty, J.(2000).** Trace metals, other chemical elements and lichen physiology: research in the nineties. In: Markert, B., Friese, K. (Eds.), *Trace Elements and Their Distribution and Effects in the Environment*. Elsevier Science, Amsterdam, pp: 277–322.
- Garty J,Tamir O, Hassid I,Eshel A,Cohen and Orlovsky L. (2001).** Photosynthesis, chlorophyll integrity and spectral reflectance in lichens exposed to air pollution.*J.Environ.Qual* 30: 884-893.
- Garty J. (2001).** Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens: theory and application, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 20(4), p. 309-371.
- Garty, J.(2002).** Biomonitoring heavy metal pollution with lichens. In: Kranner, I., Beckett, R.P., Varma, A.K. (Eds.), *Protocols in Lichenology. Culturing, Biochemistry, Ecophysiology and Use in Biomonitoring*. Springer, Berlin/Heidelberg, pp: 458–482.
- Garrec J-P et Van Haluwyn C. (2002) .** Biosurveillance végétale de la qualité de l'air : concepts , méthodes et applications. Paris, TEC & DOC Eds.
- Gaveriaux J.P . (1995) .** Les lichens et la bioindication de la qualité de l'air . Guide technique à l'usage des professeurs des collèges et lycées : 52 pages.
- George EF. (1993).** *Plant Propagation by tissue culture: Part I: the technology*. Edington, UK.: Exegetics Ltd, p. 273–291.
- Gherroucha H et Djekoun A. (1997).** Effet de l'application foliaire de IAA et GA₃ et leur interaction sur la croissance du blé (*Triticum durum* Desf. Var Leucomilan, AL) en conditions de salinité. Mémoire d'ingénieur , Université de Constantine :128p.
- Gilbert O.L.(1970).** Further studies on the effect of sulfur dioxide on lichens and bryophytes.*New Phytol* 69:605-627.
- Gilbert O.L.(1973).** The effect of airborne fluorides. In *air pollution and lichens*,Athlone press,London
- Gombert S et Asta J.(1997).** Etude du suivi de la pollution chlorée émise par une usine d'incinération d'ordures ménagères par l'utilisation de bioindicateurs végétaux : lichens et sphagnes. *Ecologie .t.28* :365-372.
- Gombert S ,Asta J. et Seaward M.R.D.(2004).**Assesment of lichen diversity by index of atmospheric purity (IAP), index of humain impact (IHI) and other environmental factors in an urban area (Grenoble, southeast France).*Science of the total Environmental* 324: 183-199.
- Grégory A, Olivier M & Asta J. (2004).** Mousses et lichens, bio-indicateurs (S.L) de l'état des zones humides : exemples de quatre sites protégés du département de l'Isère (France).*Rev. Ecol.(Terre Vie)*,vol.59 :147-162.
- Gossett DR , Millhollon EP , Lucas MC. (1994).** Antioxydant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Sci.* **34**, p. 706–714.
- Green A.J , Figuerola J & Sánchez M.I. (2002).** Implications of water bird ecology for the dispersal of aquatic organisms. *Acta Oecol.*, 23: 177-189.
- Grigor'ev, Y.S., Buchel'nikov, M.A. (1997).** Bioindication of air pollution using retarded

fluorescence of chlorophyll in transplanted lichens. Russian Journal of Ecology 28 : 414–416.

Guelorget O et Perthuisot J.P. (1984). Indicateurs biologiques et diagnose écologique dans le domaine paraliq. Bull.Ecol. 15:67-76.

Guignard et Dupont F. (2004). Botanique, systématique moléculaire, 3^{ème} Edition : Masson : 25 pages.

Habig W.H , Pabst M.J, Jakoby W.B. (1974). Glutathione S-transferases. J. Biol.Chem. 249, 7130– 7139.

Hall P, Bowers W, Hirvone H,Hogan G,Forster N,Morrison I,Perry K,Cox R and Arp P.(1997). Canadian acid rain assessment.Vol .4.*The effects on Canada's forests.*Ottawa:Environnement Canada.

Hare, P.D., and Cress, W.A. (1997) . Metabolism implication of stress. Induced proline accumulation In plant. *Pant growth regule.* 21: 79-102.

Havaux M. (1988). Effects of temperature on the transitions between state 1 and state 2 in intact maize leaves. *Plant Physiol. Biochem.,* 26 : 245-251.

Hawksworth D.L et Rose F. (1970). Qualitative scale for estimating sulphur dioxide air pollution in England and Wales using epiphytic lichens. *Nature* 227.5245:145-148.

Hawksworth D.L et Hill D.J. (1984). *The Lichen-Forming Fungi.* First Edition,France.

Hecnar S.J. (1995) . Acute and chronic toxicity of ammonium nitrate fertilizer to amphibians from southern Ontario.*Environmental Toxicology and Chemistry* 14, 2131-2137.

Holden M. (1975). Chlorophylls in chemistry and biochemistry of plant pigment.2nd Edition Academie press, New York : pp.133.

Holopainen J.K, Braun S. And Fluckiger W. (1994). The response of spruce shoot aphid *Cinara pilicrnis* hartig to ambient and filtered air at two elevations and pollution climates. *Environmental Pollution* 86: 233-238.

Huang H.C.A and Cavalieri A.J. (1979). Proline metabolism during water stress in mulberry. *American Fern Journal* 74(2): 37-39.

Hubac S et Viera D . (1980). Action de la proline exogène sur l'activité de la voie du glycolate chez *Nicotiana tabacum* cv. *Xanthi n.c.* *Physiologia Plantarum* (3)50: 255-259.

Impens R, Piret T, Robert M.J. (1981). Surveillance de la qualité de l'air par analyse de plantes indicatrices et accumulatrices. *Annales de Gembloux,*87 :49-59.

Israr M, Shivendra S, Rupli D and Dibyendo S.(2006). Bioaccumulation and physiological effects of mercury in *Sesbania drummondii.* *Cemosphere* 65:591-598.

Irina A. Guschina, John L. Harwood .(2006). Lead and copper effects on lipid metabolism in cultured lichen photobionts with different phosphorus status ;*Phytochemistry* 67 :1731–1739.

Jahns H.M. (1989) . Guide des fougères, Mousses et Lichens d'Europe. Edition Delachaux et Niestlé.224 pages.

James P.X. (1973). The effect of air pollutants other than hydrogen fluoride and sulfur dioxide on lichens. In *Air Pollution and Lichens,*Athlone press,Londres:143-175.

Jensen F.B .(2005).Nitrite and red cell function in crap: control factors for nitrite entry membrane potassium ion permeation, oxygen affinity and methemoglobin formation.*J.Exp.Bio.*152:149-166.

Johnson R.C , Nguyen H.T et Croy, L.I. (1984). Osmotic adjustment and solute accumulation in two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Sci.,* 24 : 957-962.

- Kamara, S. and S. Pflugmacher. (2006).** *Phragmites australis* and *Quercus robur* leaf extracts affect antioxidative system and photosynthesis of *Ceratophyllum demersum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67:240-246.
- Kampfenkel K ,Van Montagu M and Inze D. (1995).** Effects on iron excess on *Nicotiana plumbaginifolia* plants. *Plant Physiol.* 107: 725-735.
- Keller A.A & Schwager H. (1977).** Air pollution and ascorbic acid . *European Journal of Forest Pathology* 7: 338-350.
- Kennett E.C, Ogawa E, Agar N.S, Godwin I.R, Bubb W.A, Kuchel P.W. (2005).** Investigation of methaemoglobin reduction by extracellular NADH in mammalian erythrocytes. *Intern Jour Biochem and Cell Biol.* 37:1438-1445.
- Kershaw K. A. (1985).** Physiological ecology of lichens, Cambridge University Press, Cambridge.
- Khaldi F. (2003).** Toxicité du nitrate d'ammonium NH_4NO_3 sur trois modèles biologiques : les paramécies, les mousses et les lichens. Effet sur leur métabolisme respiratoire. Mémoire de Magister en Biochimie Appliquée. Université Badji Mokhtar, Annaba : 86pages.
- Khalil K et Asta J. (1998).** Les lichens, bio-indicateurs de pollution atmosphérique dans la région lyonnaise. *Ecologie*. 29 (3) : 467-472.
- Kiss A, Varga I, Galbacs Z, Maria T, Csikkel-Szojnoki A .(2003).** Effect of sge and magnesium supply on the free radical and antioxidant content of plants. *Acta Biol. Szegediensis.* 47: 127-130.
- Klara D. Vichnevetskaia and D.N. Roy.(1999).** Oxidative stress and antioxidative defense with an emphasis on plants antioxidants .*Environ. Rev./Dossiers environ.* 7(1): 31-51.
- Knudson L.L, Tibbits T.W and Edwards G.E. (1977).** Measurement of ozone injury by determination of leaf chlorophyll concentration. *Plant Physiology* 60: 606-608.
- Kricke R, Loppi S. (2002).** Bio-indication : the IAP approach. In : Nimis PL, Scheidegger C, Wolesely PA. *Monitoring with lichens-Monitoring lichens.* Kluwer, The Netherlands, 21-37.
- Krommer V., Zechmeister H.G., Roder I., Scharf S. et Hanus-Illnar A.(2007).** Monitoring atmospheric pollutants in the biosphere reserve Wienerwald by a combined approach of biomonitoring methods and technical measurements, *Chemosphere*, 67, p. 1956-1966.
- Kuciel R, Mazurkiewicz A .(2004).** Formation and detoxification of Reactive Oxygen Species. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 32: 183-186.
- Kuznetsov V.V , Shevyakova NI. (1997).** Stress Reponses of tobacco cells to high temperature and salinity: Proline phosphorylation of polypeptides. *Physiol. Plant.* 100: 320-386.
- Lagadic L, Caquet T, Amiard J.C. (1997).** Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux. Ed Masson 196p.
- Lagadic L, Caquet T, Amiard J.C et Ramade F. (1998).** Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de l'environnement. Lavoisier Tec & Doc.
- Laurent B et Ahmed B.(1991).** La germination des semences en conditions sèches. *Sciences et changements planétaires/Sécheresse* 2(4) :239-249.
- Lawrey J.D. (1981).** Rétrospective study of lichen lead accumulation in the Northeastern United States. *The Bryologist* 84(4): 449-456.
- Leblond S. (2004).** Etude pluridisciplinaire du transfert des métaux de l'atmosphère vers les mousses (*Scleropodium purum* (Hedw.) Limpr.) : Suivi sur un site rural (Vouzon, France). Thèse de Doctorat de l'Université Paris 7 - Denis Diderot : 212pages.
- Leblanc F. & Sloover J.(1970).** Relation between industrialization and the distribution and growth of epiphytic lichens and mosses in Montreal. *Can.J.Bot.* 48 : 1485-1496.
- Leblanc F. Comeau G et Rao D.N. (1971).** Fluoride injury symptoms in epiphytic lichens and mosses. *Can. J. Bot.* 49 :1691-1698.

- Leclerc J.C. (1999).** Ecophysiologie végétale. Publication de l'université de Saint-Etienne :171-180pages.
- Lerond M. (1981).** Les lichens épiphytes en Normandie orientale. Distribution, sociologie et application à la cartographie de la pollution atmosphérique. Thèse Doctorat Rouen,165p.
- Lerond M. (1984).** Utilisation des lichens pour la cartographie et le suivie de la pollution atmosphérique. Bull.Ecol.1(51) :7-11.
- Lerond M et Van Haluwyn. (1981).** Les indicateurs biologiques et le développement : les lichens. In : Les connaissances scientifiques Ecologiques et le Développement et la gestion des ressources et de l'Espace. Paris. 801p.
- Leviel B,Gabrielle B,Justes E,Mary B et Gosse C.(1998).** Water and nitrate budgests in a rendzina cropped with oilseed rape receiving various amounts of fertilzer .*European Journal of Soil Science*.49:37-51.
- Levitt J. (1980).** Responses of plants to environmental stresses. Volume II:Water,radiation, salt, and other stresses . Academic Press, New York.
- Lewis OAM , Chadwick S. (1983).** An 15N investigation into nitrogen assimilation in hydroponically-grown barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Clipper) in response to nitrate, ammonium and mixed nitrate and ammonium nutrition. *New Phytol.* **95**, p. 635–646.
- Lodenus M.(1989).** Biological monitoring of airborne mercury .LJ Brassier and WC Mudler (Eds), Man and his ecosystem. Proceedings of the 8th World clean air congress. The hague,the Netherlands volume 3 Elsevier Science publishers B.V Amesterdam.
- Loewus F.A .(1998).** Ascorbic acid and its metabolic products. In The Biochemistry of plants, Vol.14(J.Preiss,ed.):85-107. Nrw York:Academic Press.
- Loggini F (1999) in Youbi M .(2005).** Effets de deux fongicides Artea et Punch nouvellement introduits en Algérie sur la physiologie et le métabolisme respiratoire du blé dur (*Triticum durum Desf*).Thèse de Magister de l'Université Badji Mokhtar de Annaba.
- Loppi S, Putorti E, De Dominics V & Barbaro A. (1995).** Lichens as bioindicators of air quality near a municipal solid waste incinerator(Central Italy).Allionia,33:121-129.
- Loppi S & Bonini I.(2000).** Lichens and mosses as biomonitors of trace elements in areas with thermal springs and fumaroles activity (Mt. Amiata,central Italy). Chemosphere,41: 1333-1336.
- Loppi S., Frati L, Paoli L, Bigagli V, Rossetti C, Bruscoli C. et Corsini A.(2004).**Biodiversity of epiphytic lichens and heavy metals contents of Flavoparmelia caperata thalli as indicators of temporal variations of air pollution in the town of Montecatini Terme (central Italy), *Science of the Total Environment*, 326, p. 113-122.
- Lüttge U. in Leclerc. (1993).** Stoff Transport der planzen, Spinger Berlin Heidelberg NewYork.
- Markert B. (1993).** Plants as biomonitors.Indicators of heavy metals in the terrestrial environment.VCH.Weinheim.New York,Basel,Cambridge :644p.
- Martinon L. (1991).** Etude des émissions de poussières atmosphériques d'un incinérateur d'ordures ménagères. Thèse de doctorat des sciences, Université Paris 6 :167pages.
- Masclat P. (2005).** Pollution atmosphérique : Causes, conséquences, solutions et perspectives, Edition : Ellipses : 213 pages.
- May M.J and Leaver, C.J. (1993).** Oxidative stimulation of glutathion synthesis in *arabidopsis thaliana* suspension cultures. Plant physiology 103: 621-627 pages.
- Mehta, S.K., and Gaur, J.P. (1999).** Heavy metal-induced praline accumulation an dits role in amelioring metal toxicity in chorella vulgaris. *New phytol.* 143: 253-259.
- Mersch J, Claveri B. (1997).** Biosurveillance des retombées atmosphériques d'hydrocarbures aromatiques polycycliques et de dioxines/furanes par des bryophytes terrestres et des choux à feuilles frisées.In :AFIE. *Les bio-indicateurs de la qualité de l'air,Rouen,6Novembre 1997*,39-40.

- Mishra S, Srivastava S, Tripathi R.D, Govindarajan R, Kuriakose S.V, Prasad M.N.V. (2006a).** Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiol. Biochem.* 44, 25–37.
- Mishra S, Srivastava S, Tripathi R.D, Kumar R, Seth C.S, Gupta D.K. (2006b).** Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatin and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere* 65, 1027–1039.
- Mittler R. (2002).** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Plant Sci.* 7, p. 405–410.
- Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F. (2004).** Réactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci* 9 :490-498.
- Modenesi P. (1993).** An SEM study of injury symptoms in *Parmotremareticulatum* treated with paraquat or growing in sulphur dioxide-polluted air. *Lichenologist* 25 :423-433.
- Monneveux P.H et Nemmar M. (1986).** Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre. Etude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*: 17 pages.
- Monneveux D. (1989).** Quelles strategies pour l'amélioration génétique des cereals d'hiver. *Jour.Scie. de l'AUPELEF, Tunis (Tunisie)*, 4-9 Déc., ENSA-INRA, Montpellier, 24p.
- Nagalakshmi N et Prasad M.N.V. (2001).** Responses of glutathione cycle enzymes and glutathione metabolism to copper stress in *Scenedesmus bijugatus*. *Plant Sci* 160: 291-299.
- Nakano Y and Azada K. (1987).** Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts: its inactivation in ascorbate depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiol.* 28:131-140.
- Narbonne J.F, Garrigues P, Ribera D, Raoux C, Mathieu A, Lemaire P, Salaun J.P, Lafaurie M. (1991).** Mixed-function oxygenase enzymes as tools for pollution monitoring : field studies on the French coast of the Mediterranean sea. *Comp. Biochem. Physiol.*, 100C, 37-42.
- Nieboer E, Ahmed H, Puckett and Richardson D.H. (1972).** Heavy metal content of lichens in relation to distance from a nickel smelters in Sudbury Ontario, *lichenologist* 5:292-304.
- Nimis P.L, Lazzarin Gand Gasparo D. (1991).** Lichens as bioindicators of air pollution by SO₂ in the Veneto region (ne Italy). *Studia Geobotanica* 11:3-76.
- Nimptsch J and Pflugmacher S. (2007).** Ammonia triggers the promotion of oxidative stress in the aquatic macrophyte *Myriophyllum mattogrossense*. *Chemosphere* 66 :708-714.
- Nylander W. (1876).** Les lichens du jardin du Luxembourg. *Bull Soc. Bot.* R13 :364-372.
- Ober ES et Sharp RE. (1994).** Proline accumulation in maize (*Zea mays* L.) primary roots at low water potentials. I. Requirement for increased levels of abscisic acid. *Plant Physiol.* 105: 981-987.
- Ortiz D.F, L. Kreppel, D.M, Sperser, G, Scheel, G. Mc, OW Donald and DW. (1992).** Heavy metals tolerance in the fission yeast reguises an ATP binding cassette- type vacuolar membrane transporter. *EMBO/* 11: 3491-3499.
- Ozenda P et Clausade G. (1970).** Les lichens étude biologique et flore illustrée, Ed.Masson C.I.E.
- Ozenda P. (1990).** Les organismes végétaux, tome 1 : végétaux inférieurs, Edition : Masson : 220-230 pages.
- Ozenda P. (2000).** Les végétaux organisation et diversité biologique 2^{ème} Edition : Masson : 192 pages.
- Paleg LG, Stewart GR, and Bradbeer, JW. (1984).** Proline and glycine betaine influence proteine solvation. *Physiol* 75: 974-978.
- Palmqvist K, Campbell D, Ekblad A and Johansson H. (1998).** Photosynthetic capacity in relation to nitrogen content and its partitioning in lichens with different photobionts. *Plant, Cell and Environnement* 21:361-372.
- Panda S.K. (2003).** Heavy metal phytotoxicity induces oxidative stress in *Taxithelium sp.*. *Curr. Sci.* 84: 61–633.

- Pardha Saradhi ,Alia P & Vani B . (1993).** Inhibition of mitochondrial electron transport is the prime cause behind proline accumulation during mineral deficiency in *Oryza sativa*. *Plant Soil* . 155/156 : 465-468.
- Patra J and Panda B.B. (1998).** A comparison of biochemical responses to oxidative and metal stress in seedling of barley, *Hordeum vulgare* L. *Environ.Pollut.*101: 99-105.
- Pelmont J.(1995).** Bactéries et environnement: Adaptation physiologique.ed.O.P.U. VII :736-739 .
- Peršić A. (2004) .** Modalités de contamination par les polluants organiques persistants des réseaux trophiques lagunaires. Application de la méthode des isotopes stables .Thèse de Doctorat. Université Paris XI. p.159.
- Pesch R. et Schröder W.(2006).** Integrative exposure assessment through classification and regression trees on bioaccumulation of metals, related sampling site characteristics and regions, *Ecological informatics*, 1, p. 55-65.
- Pompella A, Maellaro E, Casini A.F, Comporti M. (1987) .**Histochemical detection of lipid peroxidation in the liver of bromobenzene–poisoned mice. *Am J Pathol* 129:295–301.
- Popescu M, Blanchard J.M et Carre J.(1998).** Analyse et traitement physico-chimique des rejets industriels : Emissions, fumées, odeurs et poussières. Edition Lavoisier TEC and Doc : 448-452.
- Posthumus A .(1983).**General philosophy for the use of plants as indicators and accumulators of air pollutants and as bio-monitors of their effects. In: Proc of the VIth World Congress on Air Quality.Paris,16-20 May 1983,vol.2.p:555-561.
- Prasad KVS, Saradhi PP, Sharmila P .(1999).** Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea*. *Environ.Exp. Bot.* 42: 1-10.
- Prin R. (1982).** Les lichens et la pollution atmosphérique dans l'agglomération troyenne et les environs. Imprimé par R. METAYE, Troyes,19.
- Puritch G.S and Barker A.V.(1967).**Structure and function of leaf tomato chloroplasts during ammonium toxicity.*Plant.Physiol.*42.1229-1238.
- Ramade F. (1995).** Eléments d'écologie, écologie appliquée. 5ème Edition. Ed. Ediscience International: 89-90.
- Ramel F. (2009) .** Implication des sucres solubles dans les réponses aux stress xénobiotique et oxydatif chez *Arabidopsis thaliana*. Thèse de Doctorat de l'Université de Rennes I : 231 pages.
- Riddell J, Thomas H, Nash III and Padgett P. (2008).** The effect of HNO₃ gaz on the lichen *Ramalina menziesii*.*Flora* 203:47-54.
- Renaud J.P, Laitat E. Mauffette Y. and Allard G . (1998).** Photoassimilate allocation and photosynthetic and biochemical characteristics of two alfalfa (*Medicago sativa*)cultivars of different ozone sensitivities. *Canadian Journal of Botany* 76: 281-289.
- Rope S. (1990).** Les lichens comme bioindicateurs de la pollution dans les environnements semi-aride (IDAHO), *the Bryologist* 93 (1)pp :50-61.
- Richardson H.S .(1992) .** Pollution monitoring with lichens, naturalist's handbooks 19 richmon publishing, England : 76 pages.
- Rucinska R, Waplak S and Gwozoz EA .(1999).** Free radical formation and activity of antioxidant enzymes in lupin roots exposed to lead. *Plant Physiol. Biochem.* 37: 187-194.
- Rzepka M.A et Cuny D.(2008).** Biosurveillance végétale et fongique des ETM atmosphériques. *Air Pur* N°=75:66-79.
- Sabaratham S, Gupat G, Mulchi C. (1988).**Effects of nitrogen dioxide on leaf chlorophyll and nitrogen content of soybean. *Environ Pollut.* 51(2):113–120.
- Saez, G.T, Bannister W.H, Bannister, J.V.(1990).** Free radicals and thiolcompounds: the role of glutathione against free radical toxicity. In:Vina, J. (Ed.),*Glutathione Metabolism and Physiological Functions*.CRC Press, Boca Raton, pp. 237–254.

- Sairam RK , Srivastava GC. (2002).** Changes in antioxidant activity in sub-cellular fraction of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Sci.* 162: 897–904.
- Salt D.E , Prince R.C, Pickering IJ et Raskin I. (1995).** Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiology* 109:1427-1433.
- Sanchez E ,Rivero R.M, Ruiz J.M and Romero L. (2004).** Changes in biomass activity and protein concentration in roots and leaves of green bean plant (*Phaseolus vulgaris* L.cv.Strike) under high NH₄NO₃ application rates. *Scientia Horticulturae.*99:273-248.
- Sandhu, R. and Gupta, G. (1989).** Effects of nitrogen dioxide on growth and yield of black turtle bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. ‘Domino’.*Environmental Pollution* 59:337-344.
- Sbartai H, Rouabhi R, Sbartai I, Berrebbah H and Djebar M-R.(2008)** .Induction of anti-oxidative enzymes by cadmium stress in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *African Journal of Plant Science* Vol. 2 (8): 072-076.
- Scandalios JG. (1993).** Oxygen stress and superoxyde dimutase. *Plant Physiol.* 101: 7–12.
- Schiels R and Burnett W . (1960).** Determination of protein bound carbohydrate in serum by a modified anthrone method. *Anal. Chem.* 32: 885-886.
- Schonbeck H. (1969).** Eine methode zur Erfassung der biologischen Wirkung von Luftverunreinigungen durch transplantierte Flechten. *Staub. Reihn.Luft* 28:14-18.
- Schumacker A et Hallet C. (1997).** Article (Station scientifique des hautes-Fagnes ;Ulg) Edition : M.Dufrène et Ph. Lebrun (UCL). Décembre,1997.
- Semadi A . (1989) .** Effet de la pollution atmosphérique (pollution globale, fluorée et plombique) sur la végétation dans la région de Annaba. Thèse de doctorat d’état en sciences naturelles. Université Pierre et Marie Curie, Paris VI : 399 pages.
- Semadi A. (1993).** Quelques données sur la pollution globale (pollution fluorée en particulier) dans la région de Annaba (Algérie).*Poll .Atmos.,Avril-Juin 1993* : 113-121.
- Semadi A et Deruelle S. (1993).** Détection de la pollution plombique à l’aide de transplants lichéniques dans la region de Annaba (Algérie). *Pollution Atmosphérique* : 86-102.
- Shah K, et Dubey R.S. (1998).** Effect of cadmium on proline accumulation and ribonuclease activity in rice seeding: rôle of proline as a possible enzyme protectant. *Biol plant* 40: 121-130.
- Sharma S . (2009).** Study on impact of heavy metal accumulation in *Brachytheceium populeum* (Hedw)B.S.G. *Ecological Indicators* 9: 807-811.
- Shevyakova N,Bakulina E.A and Kuznetsov VI.V.(2009).**Proline antioxidant role in the common ice plant subjectd to salinity and paraquat treatment inducing oxidative stress.*Russian Journal of plant physiology*, Vol 56 N°5,pp:663-669.
- Shraddha Singh S, Rohit Saxena R, Sarita Sinha S.(2004).** Response of antioxidants in sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown on different amendmets of tannery sludge: its metal accumulation potential.*Chemosphere* 57(11):1663-73.
- Shumacker A; et Hallet C. (1997).** Article (Station scientifique des hautes-fagnes,Ugl).Edition: M.Dufrène et Ph.Lebrun (UCL).Décembre :1997 .
- Sinha S, Saxena R and Singh S. (2005).** Chromium induced lipid peroxidation in the plants of *Pistia stratiotes* L.: role of antioxidants and antioxidant enzymes.*Chemosphere* 58, 595–604.
- Smirnoff, N. (1993).**Tansley review n°52. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and dessication. *New Phytologist* 125:27-58.
- Smirnoff, N. (1996).**The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Annals of Botany* 78:661-669.
- Smirnoff, N. (1998).** Plant resistance to environmental stress. *Curr. Opin. Biotechnol.*9: 214–219.
- Smodis B, Parr RM (1999).** Biomonitoring of air pollution as exemplified by recent IAEA Programs. *Biological Trace Element Research* ,71-72:257-266.

- Stalt J.P, Sneller F.E.C, Bryngelson T, Lundborg T and Schat H. (2003).** Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat . *Environnemental and Experimental Botany*,49:21-28.
- Steinnes E. (1989).** Biomonitoring of air pollution by heavy metals. Control and fate of atmospheric trace metals. B. Ottar, Kluwer Academic Publishers. 268: 321-338.
- Steubing L. (1982).** Problems of bioindication and the necessity of standardization. In *Monitoring of air pollutants by plants-Methods and problems. Proc.of the international Workshop Osnabruk (F.R.G). Septembre 24-25,1981,p: 19-24.*
- Stroinski, A.(1999).** Some physiological and biochemical aspects of plant resistance to cadmium: effect on antioxidative system. *Acta Physiol. Plant.* 21 :175-184.
- Sucharova J. et Suchara I. (1998).** Atmospheric deposition levels of chosen elements in the Czech Republic determined in the framework of the International Bryomonitoring Program 1995, *The Science of the Total Environment*, 223, p. 37-52.
- Sunderman F.W.(1987).** Manual of procedures for the Seminar on Clinical and Analytical Toxicology, November 12 to 15.
- Taylor NL, Day DA, Millar H. (2004).** Targets of stress-induced oxidative damage in plant mitochondria and their impact on cell carbon/nitrogen metabolism. *J. Exp. Bot.* **394**, p. 1–10.
- Thomas H.F and Bohnert H.J. (1993).** Salt stress perception and plant growth regulators in Halophyte *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant Physiol.*103:1299-1304.
- Thompson J.E, Paliyath G, Brown J.H and Dubury C.L. (1987).** The involvement of active oxygen in membrane deterioration during senescence. In *Plant Senescence : its Biochemistry and Physiology*, W.W. Thompson, E.A. Nothnagel and R.C. Huffaker, Eds., American society of Plant Physiologists, Rockville, USA, pp. 146-155.
- Thurman R.B & Gerba C.P. (1987).** Protecting groundwater from viral contamination by soil modification. *Journal of Environmental Science and Health A22:* 369-388.
- Tlili N, Aimeur N, Boughediri L, Tahhar1 A et Chaoui F.(2009).** Effets de la pollution atmosphérique sur les feuilles et le pollen de *rosa odorata* dans la région de Annaba (Confrontation avec les données de SAMA SAFIA). *Revue Synthèse N° 20, Juin 2009 :22-30.*
- Tomassini F.D, Puckett K,Nieboer E,Richardson D.H et Grace B. (1976).** Determination of cooper,iron,nickel and mercury in lichens from Machenzie valley. North West territories and Sudbury district,Ontario,canJ.Bot54:1591-1603.
- Tonneijck AEG, Posthumus A. (1987).** Use of indicator plants for biological monitoring of effects of air pollution: the Dutch approach. *VDI Berichte*,609:205-216.
- Tretiach, M., Carpanelli, A.(1992).** Chlorophyll content and morphology as factors influencing the photosynthetic rate of *Parmelia caperata*. *Lichenol- ogist* 24 :81–90.
- Tretiach M,Adamo P.A, Bargagli R,Barruffo L,Carletti P, Crisafulli, Gordamo S,Modenesi P, Orlando S,Pittao E. (2007).** Lichen and moss bags as monitoring devices in urban areas. Part I:Influence of exposure on sample vitality. *Environmental Pollution* 146: 380-391.
- Tripathi B.N,Mehta S.K , Anshu A and Gaur J.P. (2006).** Oxidative stress in *Scenedesmus sp.* During short and long-term exposure to Cu²⁺ and Zn²⁺. *Chemosphere* 62: 538-544.
- Van Dijk H.F.G , Roelfs J.G.M. (1988).**Critical loads for nitrogen with special emphasis on ammonium.Eds:Nilsson, pp:1-27.
- Van Haluwyn C .(1978).**Application de la bryolichénosociologie à l'évolution des pollutions atmosphériques acides dans la région Nord-Pas-de-Calais. Contrat tranche B. Conseil Scientifique de la faculté de Lille,16p.
- Van Haluwyn C et Lerond H .(1986).** Les lichens et la qualité de l'air. Evaluation méthodologique et limites. Rapport final au ministère de l'environnement (S.R.E.T.I.E),213p.
- Van Haluwyn C et Lerond M .(1993).** Guide des lichens. Edition Lechevalier. Paris : 344 pages.
- Van Haluwyn C , Semadi A, Deruelle S et Letrouit M.A .(1994).** La végétation lichénique corticole de la région d'Annaba (Algérie orientale). *Cryplogamie, Bryol., Lichénol*,15 (1) :1-21.

- Van Haluwyn C, Van Herk CM. (2002).** Bio-indication: the community approach. *In: Nimis PL, Scheidegger C, Woeseley PA. Monitoring with lichens-Monitoring lichens.* Kluwer, The Netherlands, 39-64.
- Vasconcelos M.T.S.D. et Tavares H.M.F. (1997).** Atmospheric metal pollution (Cr,Cu,Mn,Ni,Pb and Zn) in Oporto City derived from results for low volume aerosol samplers and for the moss *Sphagnum auriculatum* bioindicators. *The Science of the total Environment.*
- Viala A et Botta A. (2005).** Toxicologie. 2^e édition .Edition TEC & DOC. 1094 pages.
- Vidal I.M, Melgar M, Lopez A & Santoalla M. (2000).** Spatial and temporal hydrochemical changes in groundwater under the contaminating effects of fertilizers and wastewater. *Journal of environmental management*, **60**: 215-225.
- Vieitez AM , Ballester A , San-José MC , Vieitez E. (1985).** Anatomical and chemical studies of vitrified shoots of chestnut regenerated *in vitro*. *Physiol. Plant.* **65**, p. 77–184.
- Vogel- lange R , G.J. Wagner. (1990).** Subcellular localization of cadmium-binding peptides in baccolleaves –plant. *Physiol.*, (92):1082-1093.
- Wappelhorst O, Kühn I, OehlmannJ, Markert B. (2000).** Deposition and disease: a moss monitoring project as an approach to ascertaining potential connections. *The Science of Total Environnement*, **249**:243-246.
- Weckberker G, and Cory G. (1988).** Ribonucléotide reductase activity abd growth of glutathione depleted mouse leukemial 1210 cells in vitro. *Cacer letters* **40**: 257-264.
- Weckx J.E.J and Clijsters H.M.M. (1996).** Oxidative damage and defense mechanisms in primary leaves of *phaseolus vulgaris* as a result of root assimilation of toxic amounts of copper. *Physiologia Plantarum.* 96 : 506-512.
- Winston G.W and Di Giulio R.T., (1991).** Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol* **19**: 137-161.
- Wollgieh R , Newmann D. (1995).** Stress response of tomato cell cultures to toxic metals and heat shock: differences and similarities, *J. Plant Physiol* **146** : 736–742.
- Wolterbeek B. (2002).** Biomonitoring of trace air pollution: principles, possibilities and perspectives. *Environmental Pollution* **120**: 11-21.
- Woodbury P.B and Hudler G.W. (1994).** Chronic ozone exposure alters the growth of leaves, stems and roots of hybrid *Populus*. *Environmental Pollution* **85**: 103-108.
- Wu Yanfang, Chen Yahua, Yi Yanjun and Shen Zhenguo. (2008).** Responses to copper by the moss *Plagiomnium cuspidatum* : hydrogen peroxide accumulation and the antioxidant system. *Chemosphere* **xxx**:1-6.
- Xiao WY, Sheen J, Jang JC .(2000).** The role of hexokinase in plant sugar signal transduction and growth and development. *Plant Molecular Biology* **44**: 451-461
- Xue T, Hartikainen H, Piironen V. (2001).** Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant Oil* **237**, p. 55–61.
- Yunus M and Iqbal M. (1996).** Plant response to air pollution. John Wiley & Sons, Chichester.
- Zarrouk M. (1999).** Stress oxydatif chez les végétaux. Thèse, Fac. univ. Sci. Tunis II. Tunisie, 45 p.
- Zhu YL, Pilon-Smits E, Tarun AS, Jouanin L, Terry N .(1999).** Overexpression of glutathione synthetase in indian mustard enhances cadmium accumulation and tolerance. *Plant Physiology* **119**: 73-80.
- Zienk N.H. (1996).** Heavy metal detoxification in higher plant a review-gene., **179**: 21-30



Biblionet

@¹: (<http://fr.Encarta.msn.com/text-761563744--1/mousses.html>).

@²: (http://www.worldlingo.com/ma/dewiki/fr/Leucodon_sciuroides).

@³: (<http://fotografia.biolog.pl/thunails-25html>).

@⁴: (<http://www.flickr.com>).

@⁵: (<http://www.bryoecol.mtu.edu/>).

@⁶: (http://Souk-Ahras_tourism.Com/Taoura).

@⁷: (<http://www.Google/earth>).



Figure 97: Situation géographique du complexe FERTIAL @⁷

Tableau 18. Capacités de production du complexe Fertial (U.E.F,2010)

Unités	Capacités de production en Tonnes /an
*Unité d'ammoniac	330 000
*Unité d'acide nitrique	264 000
*Unité de nitrate d'ammonium/can	330 000
*Unité UAN (urée acide nitrique)	240 000
*Unité de NPK/TSP/PK/ Sulfazot	550 000
*Unité SSP (Super Simple Phosphate)	240 000

Les rejets du complexe FERTIAL

Tableau 19. Rejets avant le projet de la banque mondiale (D.M.I ;2004)

Unités	Polluants	Quantités Tonnes/an
Unité nitrique	NO ₂	1 188
	NH ₃	2 291
Unité acide sulfurique	SO ₂	90 000
Unité acide phosphorique	Phosphogypse	280 000
Unité NPK	Fluor	88
Unité nitrate d'ammonium NH ₄ NO ₃	Poussières	43 000
	Nitrates NO ₃	133 0

Tableau 20. Rejets après le projet de la banque mondiale (U.E.F,2010)

Unités	Polluants	Quantités Tonnes/an
Unité nitrique	NO _x	275
	NH ₃	45,6
Unité acide sulfurique	SO ₂	0
Unité acide phosphorique	Phosphogypse	0
Unité NPK	Fluor	10,5
Unité nitrate d'ammonium NH ₄ NO ₃	Poussières	?
	Nitrates NO ₃	250

Tableau 21. Rejets des autres filiales de Ferial (U.E.F,2010)

Unité	Polluants	Quantités
Unité acide nitrique	NOx	300 Tonnes/an 50 µg/m ³
Unité SSP	fluor	50 µg/m ³
Unité de production	CO ₂	0.3 Tonnes/heures

Méthode d'analyse des oxydes d'azote (NOx) (Avant et après réduction)

• **Principe**

Le gaz est collecté dans un ballon à fond rond de deux litres, qui contient une solution neutre de peroxyde d'oxygène.

Le NOx réagit avec le NaOH en présence de H₂O₂ pour former NaNO₃ l'excès de NaOH à 0.1 N et titre en retour avec une solution de HCl en utilisant le (rouge de méthyle + le bleu de méthyle) comme indicateur (Indicateur mixte) (AFNOR, 2002)

• **Appareillage**

- 1) Ballon de deux litres à fond rond muni d'un bouchon avec un robinet à trois voies.
- 2) Pompe à vide.
- 3) Manomètre à mercure.

• **Réactifs**

- 1) Solution de NaOH à 0.1N.
- 2) Solution de HCl à 0.1N.
- 3) Eau oxygénée à 3% neutralisée.
- 4) Indicateur : 0.125 gr de rouge de méthyle + 0.08 gr de bleu de méthyle ; le dissoudre dans 2 ml de NaOH à 0.1N et volumer à 100ml avec l'éthanol.

• **Procédure**

Le ballon doit être bien lavé.

- 1) Introduire dans le ballon 25 ml d'eau oxygénée neutralisée par NaOH à 0.1N ou HCl à 0.1N en présence de 10 gouttes d'indicateur.
- 2) Introduire dans le ballon 25 ml de NaOH à 0.1N.
- 3) Boucher le ballon.
- 4) Mettre le ballon dans le sens oblique et le faire attacher à la pompe à vide qui est munie d'un manomètre et créer un vide de 650 mm de mercure.
- 5) Faire un essai pour la détection de fuite éventuelle.
- 6) Rattacher le ballon à la prise d'échantillon et le laisser ouvrir jusqu'à ce que le gaz cesse de produire des bulles dans le ballon. Puis fermer les robinets du ballon et de la prise d'échantillon secouer le ballon quelques instants laisser le gaz se dissoudre pendant deux heures en agitant de temps à autre.
-Ajouter 5 gouttes d'indicateur et titrer avec HCl à 0.1N Jusqu'au couleur bleu volume V2.
Titrer le témoin d'une manière identique consommation V1.

Noter le volume du ballon V_k. Corriger le volume V_k d'après la pression et la température.

$$NO_x = \frac{(V1 - V2) \times N_{HCl} \times 22.4 \times 10^{-6}}{F \times V_k + 1,5 [(V1 - V2) \times N_{HCl} \times 22.4]}$$

V_p = V_k x F = Volume corrigé d'après la pression et la température ; Volume de la

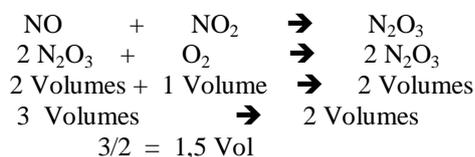
prise d'échantillon

F = Facteur de correction pour la température et pression.

V1 = Volume d'HCl chute pour essais à blanc.

V2 = Volume d'HCl chute pour l'échantillon.

• **La réaction**



Détermination de fortes concentrations massiques de poussières

C'est une méthode de référence pour le mesurage de fortes concentrations de poussières dans des effluents gazeux de sources fixes supérieurs à 5mg/m^3 dans les conditions normales.

Les poussières sont des particules de forme, de structure ou masse volumique quelconque dispersés dans la phase gazeuse dans les conditions au point de prélèvement qui sont susceptibles d'être recueillis par filtration dans les conditions spécifiées après échantillonnage représentatif du gaz à analyser et qui demeurent en amont du filtre et sur le filtre après séchage dans les conditions spécifiées.

- **Principe**

-Un échantillon gazeux de volume mesuré est prélevé dans le flux gazeux principal en différents points représentatifs pendant une durée déterminée (AFNOR ,2002)

-La poussière entraînée dans l'échantillon de gaz est collectée sur un filtre plan pré-pesé, qui est ensuite séché et soumis à une nouvelle pesée.

-Les dépôts sur l'équipement de prélèvement en amont du filtre sont également récupérés et pesés.

-L'augmentation de la masse du filtre ainsi que la masse des dépôts sont attribuées à la poussière du gaz échantillonné, ce qui permet de calculer la concentration en poussières.

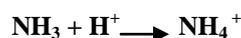
Dosage de l'ammoniac résiduel

On peut procéder par dosage direct ou par dosage en retour.

- **Dosage direct**

L'ammoniac est recueilli dans une solution d'acide borique (H_3B_3). L'acide borique est un acide faible qui ne réagit pas avec l'ammoniac, il sert simplement de piège à ammoniac. (Il doit être en excès par rapport à l'ammoniac).

L'ammoniac ainsi piégé est neutralisé au fur et à mesure de son arrivée par une solution étalonée d'acide fort (HCl ou H_2SO_4) en présence d'un indicateur coloré : l'indicateur de Tashiro ou indicateur RB (mélange de rouge de méthyle et de bleu de méthylène) amené au préalable à sa teinte sensible (gris sale). On a :



Lorsque l'ammoniac arrive dans l'acide borique, il alcalinise le milieu qui vire au vert, on verse alors la solution étalonée d'acide fort pour ramener l'indicateur à sa teinte sensible.

- **Dosage indirect**

L'ammoniac est recueilli dans un volume connu et en excès d'une solution étalon d'acide fort (HCl ou H_2SO_4). L'excès d'acide est ensuite dosé à l'aide d'une solution étalonée de base forte, en présence d'un indicateur coloré. On a :



Valeurs limites des paramètres de rejets atmosphériques

1.Normes algériennes

Décret exécutif N°06 – 138 du 15 avril 2006 réglementant l'émission dans l'atmosphère de gaz, fumées, vapeurs, particules liquides ou solides, ainsi que les conditions dans lesquelles s'exerce leur contrôle.

Tableau 22 : Normes algériennes des rejets atmosphériques (U.E.F,2010)

N°	Paramètres	Unité	Valeurs limites	Tolérances aux valeurs limites anciennes installations
1	Poussières totales	mg/Nm^3	50	100
2	Oxydes de soufre (exprimé en dioxyde de soufre)	"	300	500
3	Oxydes d'azote (exprimé en dioxyde d'azote)	"	300	500
4	Protoxyde d'azote	"	300	500

5	Chlorure d'hydrogène et autres composés inorganiques gazeux du chlore (exprimé en HCL).	"	50	100
6	Fluor et composés inorganiques du fluor (gaz, vésicule et particules), (exprimés en HF)	"	10	20
7	Composés organiques volatiles (Rejet total de composés organiques volatils à l'exclusion du méthane)	"	150	200
8	Métaux et composés de métaux (gazeux et particulaires)	"	5	10
9	Rejets de Cadmium, mercure et thallium, et de leurs composés	"	0,25	0,5
10	Rejets d'arsenic, sélénium et tellure, et de leurs composés autres que ceux visés parmi les rejets de substances cancérigènes	"	1	2
11	Rejets d'antimoine, chrome, cobalt, cuivre, étain, manganèse, nickel, vanadium et zinc, et de leurs composés autres que ceux visés parmi les rejets de substances cancérigènes	"	5	10
12	Phosphine, phosgène	"	1	2
13	Acide cyanhydrique exprimé en HCN, Brome et composés inorganiques gazeux du chrome exprimés en HBr, Chlore exprimé en HCl, Hydrogène sulfuré	"	5	10
14	Ammoniac	"	50	100
15	Amiante	"	0,1	0,5
16	Autres fibres que l'amiante	"	1	50

1.1.Tolérances à certaines valeurs limites des paramètres de rejets atmosphériques selon les catégories d'industries

Le décret exécutif N° 06-02 du 7 janvier 2006 indique dans son article 6, les valeurs limites ainsi que les objectifs de qualité de l'air fixés comme suit:

Tableau 23 . Valeurs limites et objectifs de qualité de l'air (U.E.F,2010)

Polluant	Objectif de qualité micro grammes/ Nm ³	Valeur limite micro grammes/ Nm ³
Dioxyde d'azote	135	200
Dioxyde de soufre	150	350
Ozone	110	200
Particules fines en suspension	50	80

Tableau 24. Seuils d'information et d'alerte (U.E.F,2010)

Polluant	Seuil d'information micro grammes/ Nm ³	Seuil d'alerte micro grammes/ Nm ³
Dioxyde d'azote	400	600
Dioxyde de soufre	350	600
Ozone	180	360

Tableau 25. Directives sur la qualité de l'air ambiant ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) (U.E.F,2010)

Polluant	Moyennage	Période de Banque Mondiale / générales IFC ^(a)	Directive de la Organisation Mondiale de la Santé ^(b)
Dioxyde d'azote (NO_2)	1 heure	-	200
	24 heures	150	-
	1 an	-	40
Dioxyde de soufre (SO_2)	10 minutes	-	500
	24 heures	125	125
	1 an	50	50
Particules (PM_{10})	24 heures	-	-
	1 an	-	-
Total de particules en suspension (TSP)	24 heures	70	-
	1 an	50	-
Oxyde de carbone (CO)	15 minutes	-	100 000
	30 minutes	-	60 000
	1 heure	-	30 000
	8 heures	-	10 000

(a) Banque Mondiale, Pollution Prévention and Abatement Handbook (General Environmental Guidelines), 1998 - Manuel de Pollution, prévention et réduction (directives générales en matière d'environnement) - .

(b) Organisation Mondiale de la Santé, Directives de qualité de l'air 1999

2. Normes de dioxyde de soufre (SO_2)

Tableau 26. Normes Européennes (Masclat, 2005).

Valeurs limites	Objectifs de qualité	Seuil de recommandation et d'information du public	Seuils d'alerte	Valeurs limites pour les écosystèmes
En moyenne annuelle Pour les écosystèmes $20\mu\text{g}/\text{m}^3$	En moyenne annuelle $50\mu\text{g}/\text{m}^3$	En moyenne horaire $350\mu\text{g}/\text{m}^3$	En moyenne horaire $500\mu\text{g}/\text{m}^3$ à ne pas dépasser 3 heures consécutives	En moyenne annuelle $20\mu\text{g}/\text{m}^3$ et $20\mu\text{g}/\text{m}^3$ en moyenne sur la période du 1 ^{er} Octobre -31Mars.
En moyenne journalière : $125\mu\text{g}/\text{m}^3$ à ne pas dépasser 0.8 % du temps En moyenne horaire : $410\mu\text{g}/\text{m}^3$ à ne pas dépasser plus de 0.3% du temps.	En moyenne horaire : $150\mu\text{g}/\text{m}^3$ en 2005			

Tableau 27. Normes proposés par l'OMS (Masclat, 2005).

Indicateur de pollution	Unité	10à15min	1heure	8heures	24heures	Année
SO ₂	µg/m ³	500	350		25	50
NO ₂	µg/m ³			400		150
CO	µg/m ³	100	30	10		
Pb	µg/m ³					0.5-1
O ₃	µg/m ³		150 à 200	100 à 120		

Tableau 28. Normes suisses (Masclat, 2005).

Valeurs limites d'émissions µg/m ³	Définitions statistiques
30 (13ppb)	Moyenne annuelle
100 (44)	95% des moyennes semi-horaires d'une année doivent lui être inférieur.
100 (44)	La moyenne par 24heures, ne doit en aucun cas être dépassé peu d'une fois/année

Concentrations ambiantes et normes de pollution

Pour les polluants réglementés, les concentrations atmosphériques moyennes sont les suivantes (Tbleau 25):

Tableau 29. Concentrations ambiantes (Masclat, 2005).

composé	Zone rurale	urbaine	Episode de pollution
CO	200ppb	1000	5000
SO ₂	1-3ppb	20	500
NO ₂	1-3ppb	20	300
O ₃	10ppb	100	200
COV	70ppb	100	1000
Particules	5µg.m ³	variable	1500

Tableau 30. Normes U.S.A (Masclat, 2005).

Composé	Norme USA
CO	9ppm en 8h ou 35ppm en 1h
SO ₂	30ppb annuel ou 150ppb en 24h
O ₃	120ppb en 1h
NO ₂	50ppb annuel
NMHC	250ppb de 6h à 9h du matin
TSP (total suspend particles)	50 µg.m ³ annuel ou 250µg.m ³ sur24h

Tableau 31. Normes françaises de pollution (Masclat, 2005).

Composé	Norme classique	Objectif de qualité
O ₃	180µg.m ³ sur 1h	110µg.m ³ sur 8h
NOX	200µg.m ³ sur 1h	135µg.m ³ sur 1h
SO ₂	300µg.m ³ sur 1h	100µg.m ³ sur 24h
PM10	55µg.m ³ sur 24h	30 µg.m ³ sur 1an
Hydrocarbures totaux	70µg.m ³	

Tableau 32 : Seuils d'informations gradués (Masclat, 2005).

Alerte	SO ₂	NO ₂	O ₃
1-Information des services administratifs et techniques.	200 µg.m ³	200	130
2-information de la population	350	300	180
3-alerte de la population	600	400	360

Tableau 33. Recommandations des polluants secondaires (Masclat, 2005).

Composé	Concentrations en ppb
HNO ₃	0.02-50
PAN	0.05-70
HO NO	0.03-10
N ₂ O ₅	15
NH ₃	0.02-100
H CHO	0.5-75
H COOH	20
CH ₃ OH	40

Rejets atmosphériques de Fertil durant les années 2008 et 2009

- Ammoniac Résiduel

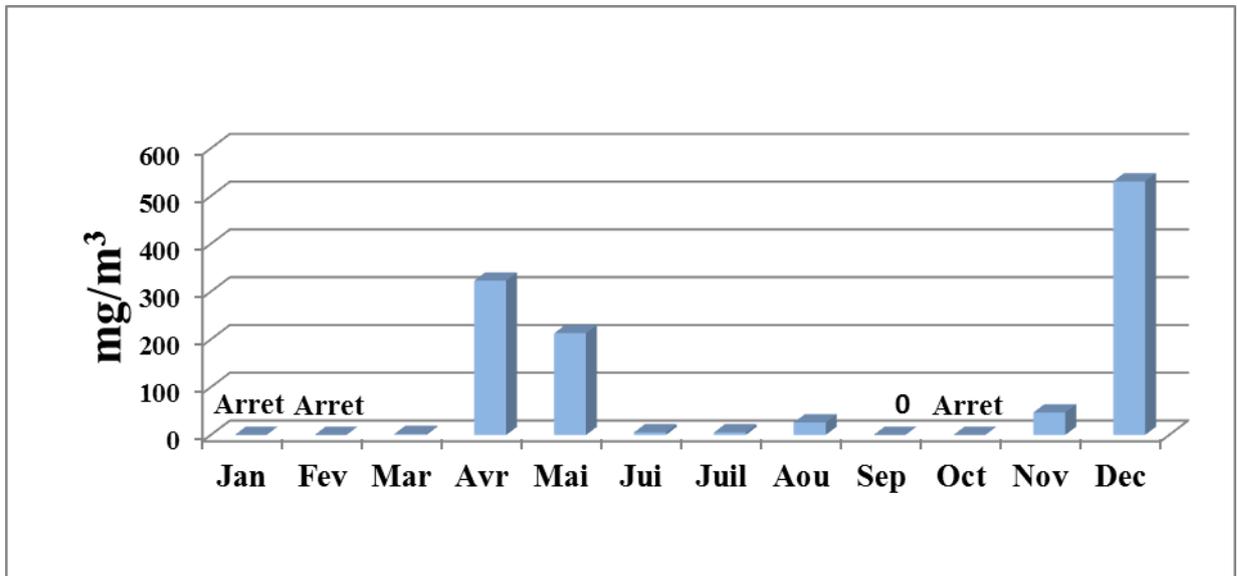


Figure 98. Moyennes d'Ammoniac Résiduel de l'unité NPK pendant l'année 2008.

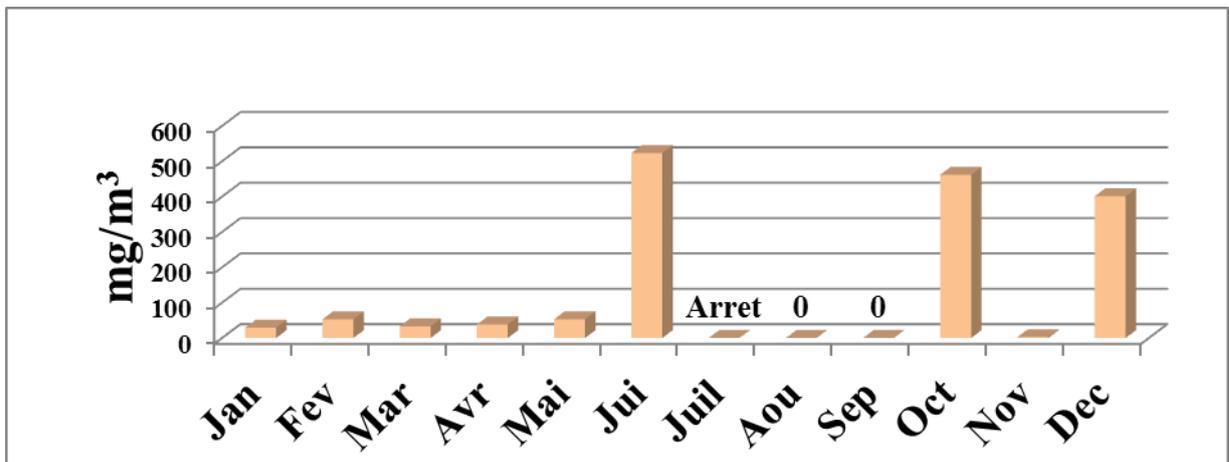


Figure 99. Moyennes d'Ammoniac Résiduel de l'unité NPK pendant l'année 2009.

- Poussières

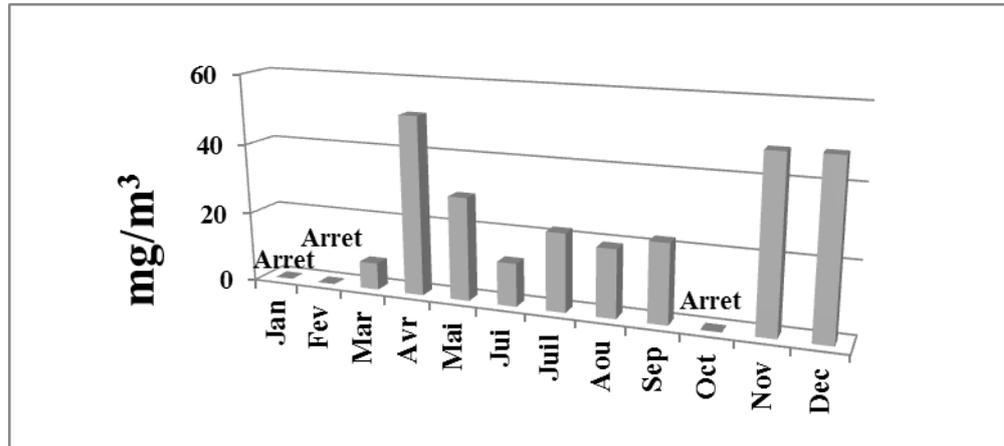


Figure 100. Moyennes des rejets de poussières de l'unité NPK pendant l'année 2008.

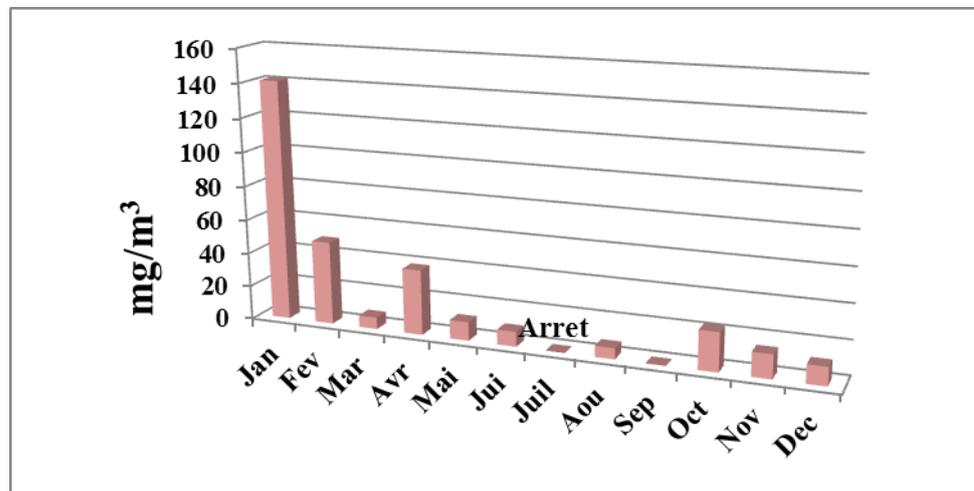


Figure 101. Moyennes des rejets de poussières de l'unité NPK pendant l'année 2009.

- NOx

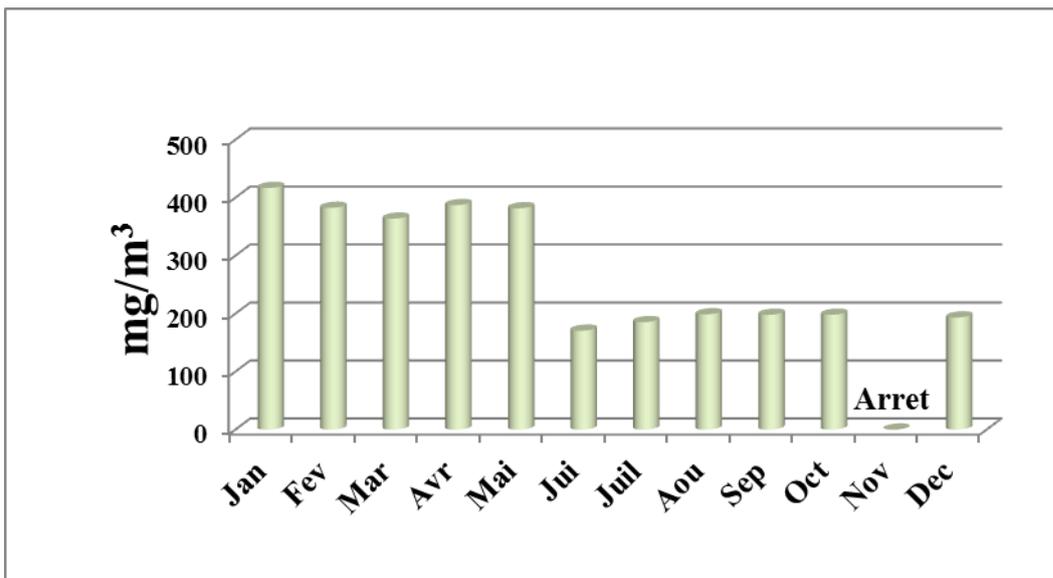


Figure 102. Moyennes des rejets de NOx de l'unité Ammoniac pendant l'année 2008.

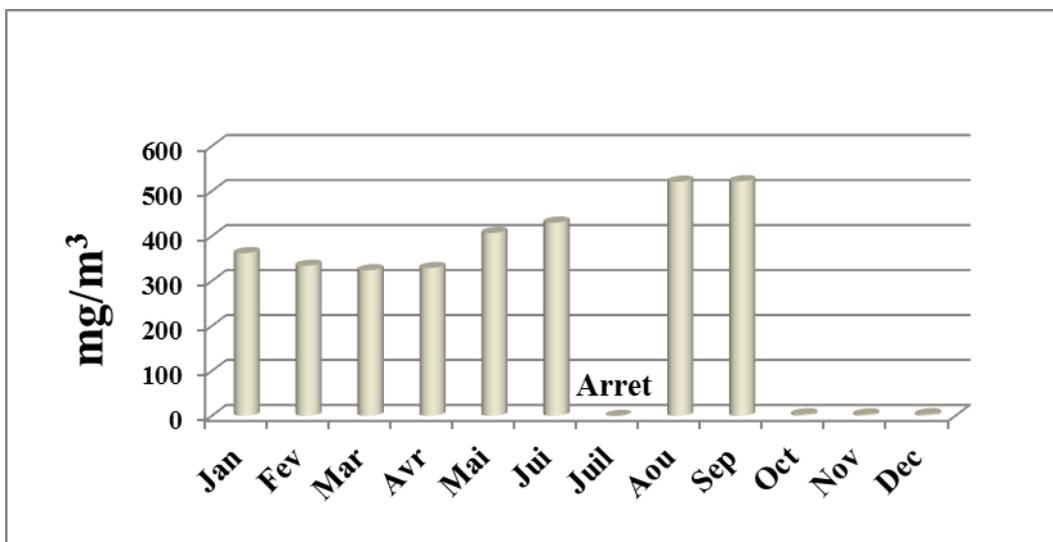


Figure 103. Moyennes des rejets de NOx de l'unité Ammoniac pendant l'année 2009.