

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

**Contribution à l'étude de l'impact d'un engrais couramment
utilisé en Algérie (NPK) sur la croissance, le métabolisme et le
développement racinaire d'un modèle végétal : blé dur
(*Triticum durum Desf*)**

Option: Toxicologie Cellulaire
Présentée par :

M^{elle} BOUCHELAGHEM Sabrina

Directeur de thèse : Dr. DJEBAR .M. R

Pr. Université de Annaba

Devant le jury :

Présidente : Dr. BERREBAH Houria

Pr. Université de Annaba.

Examinateurs : Dr. CHAHMA Abdelmadjid

Pr. Université de Ouargla.

Dr. SOLTANE Mahmoud

Pr. Université d'El Tarf.

Remerciements

Le présent travail à été réalisé au Laboratoire de Toxicologie Cellulaire de l'Université de Annaba dirigé par le Professeur **DJEBAR Med.Réda**- mon Directeur de thèse- je tiens à le remercier pour m'avoir accueilli au sein de son équipe. Qui m'a fait l'honneur d'assurer mon encadrement et qui a su faire preuve de compréhension tout au long de ces années me permettant ainsi de mener à bien de cette étude.

Mes respects et ma reconnaissance vont au professeur **BERREBBAH Houria** non seulement pour avoir accepté de présider ce jury mais également pour sa précieuse aide ainsi que sa disponibilité à mon égard, quelle trouve ici le témoignage de ma profonde considération.

Toute ma reconnaissance à Monsieur **CHAHMA Abdelmadjid** Professeur à l'Université de Ouargla, pour avoir pris sur son temps et accepter d'examiner ce travail et participer à ce jury.

Mes plus vifs remerciements à Monsieur **SOLTANE Mahmoud**; Professeur à l'Université d'El Tarf, pour sa disponibilité et pour avoir faire partie de ce jury, je lui exprime toute ma gratitude.

Enfin ; je remercie vivement toute les personnes qui m'ont épaulé et aidé au cours de ce travail ; mes parents, mon fiancé, ma famille, mes amis, mes collègues, les membres de Laboratoire de Toxicologie Cellulaire et tous le personnel de l'Université d'Annaba.

Merci à tous

Résumé

Dans cette étude nous nous sommes intéressées à l'évaluation de l'impact des différents régimes de NPK et leurs effets sur le blé *Triticum durum*.

Les premier résultats montrent que la présence de l'engrais provoque une diminution du pourcentage et de vitesse de germination ainsi une inhibition de la croissance du blé.

Sur le plan métabolique, le NPK provoque une augmentation significative des teneurs moyennes en proline et en sucres soluble ainsi une inhibition de la synthèse des protéines.

En se qui concerne les biomarqueurs nous avons mis en évidence une augmentation significative des taux moyens de l'APX ; GST et CAT ; parallèlement une diminution de l'activité GSH ; d'autre part, l'exposition de *Triticum durum* aux engrais phosphatés induit une peroxydation lipidique avec libération du MDA.

Dans notre travail, nous avons mis en évidence une inhibition de l'activité respiratoire des racines en présence de différents régimes de NPK. Ainsi une inhibition de la respiration et la photosynthèse des plantules issues des graines de blé en présence du NPK.

Mots clé : *Triticum durum* ; NPK ; biomarqueurs ; GSH, GST ; APX, CAT, MDA, Racine, feuille.

Abstract

In this study we were interested in assessing the impact of different regimes and effects of NPK on wheat *Triticum durum*.

The first results show that the presence of fertilizer causes a decrease in the percentage and speed of germination and an inhibition of growth of wheat.

On the metabolic level, the NPK caused a significant increase in mean levels of proline and soluble sugars and an inhibition of protein synthesis. With respect to biomarkers we have identified a significant increase in average rates of APX, CAT and GST, a parallel decrease in GSH activity on the other hand, exposure of *Triticum durum* phosphate fertilizers leads to lipid peroxydation with an increase in the MDA rate.

In our work, we demonstrated an inhibition of the respiratory activity of roots in the presence of different regimes of NPK. And inhibition of respiration and photosynthesis of seedlings from seeds of wheat in the presence of NPK.

Key words: *Triticum durum*; NPK; biomarkers, GSH, GST, APX, CAT, MDA, roots, leaves.

ملخص

تهتم هذه الدراسة بتقييم تأثير مجموعة من الاسمدة الفسفورية مختلفة التراكيز على القمح الصلب

النتائج الأولية تظهر أن وجود الأسمدة يؤدي إلى انخفاض في نسبة وسرعة الإنبات وتنشيط نمو القمح.

على مستوى الأيض ، حيث أن وجود NPK يسبب زيادة ملحوظة في تخليق السكر و البرولين عند نبات القمح إضافة الى تنشيط في تخليق البروتين.

فيما يتعلق المؤشرات الحيوية التي حددناها زيادة كبيرة في متوسط معدلات APX ، CAT ، وانخفاض مواز في النشاط GSH من ناحية أخرى ، وتعرض القمح للأسمدة الفوسفورية يؤدي إلى زيادة عملية تأكسد الدهون مما ينتج زيادة في كميات MDA.

اظهرت نتائج بحثنا فيما يخص عمليات التنفس تنشيط في نشاط الجهاز التنفسي للجذور في وجود أنظمة مختلفة من NPK. وتنشيط التنفس والتمثيل الضوئي للأوراق القمح في وجود NPK.

الكلمات المفتاحية : القمح الصلب؛ NPK ؛ المؤشرات الحيوية ، GSH ، GST ، APX ، CAT MDA والجذور والأوراق.

LISTE DES FIGURES

FIGURE	TITRES	PAGES
1	Tendance de l'utilisation des engrais en Afrique du Nord (1990-2000).	12
2	Effets de différents régimes NPK sur le taux moyen de la germination des graines de blé au temps de germination =96h.	35
3	Effets des différents régimes NPK sur la vitesse de germination des graines de blé au temps de germination =96h.	36
4	Effets des différents régimes du NPK sur le nombre moyen de racines de blé	37
5	Effets des différents régimes NPK sur la longueur moyenne des racines de blé à près 7jours du traitement.	38
6	Effets de différents régimes de l'NPK sur la longueur moyenne des racines de blé à près 14jours du traitement.	38
7	Effets des traitements NPK sur la longueur moyenne des tiges des plantules issues des graines de blé après 7jours du traitement.	39
8	Effets des différents régimes NPK sur la longueur moyenne des tiges des plantules issues des graines de blé après 14jours du traitement.	40
9	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en eau des racines des graines de blé après 7jours du traitement.	41
10	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en eau des racines des graines de blé après 14jours du traitement.	42
11	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en eau des tiges des graines de blé.	43
12	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en chlorophylle a ; b et (a+b) au niveau des feuilles après 7jours de traitement.	45
13	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en chlorophylle a ; b et (a+b) au niveau des feuilles des plantules issues des graines de blé a près 14 jours de traitement.	46
14	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux au niveau des racines après 7jours de traitement.	47

14	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux au niveau des racines après 7jours de traitement.	47
15	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux au niveau des racines après 14 jours de traitement.	48
16	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux au niveau des tiges après 7jous de traitement.	49
17	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux des feuilles après 14 jours de traitement.	50
18	Effet des différents traitements NPK sur le taux moyen de la proline des racines.	51
19	Effet des différents régimes NPK sur le taux moyen de la proline des tiges.	52
20	Variation de l'activité APX au niveau des racines chez les graines traitées par différentes régimes NPK après 7jours de traitement.	72
21	Variation de l'activité APX au niveau des racines chez les graines traitées par différentes régimes NPK après 14jours de traitement.	73
22	Variation de l'activité APX au niveau des tiges soumises à différents régimes NPK à prés 7jours de traitement.	73
23	Variation de l'activité APX au niveau des tiges chez les graines traitées par différentes proportion NPK après 14jours de traitement.	74
24	Effets des différents régimes NPK sur l'activité CAT au niveau des racines après 7jours de traitement.	75
25	Effets des différents régimes NPK sur l'activité CAT au niveau des racines après 14jours de traitement.	75
26	Effets des différents régimes NPK sur l'activité CAT au niveau des tiges après 7jours de traitement.	76
27	Effets des différents régimes NPK sur l'activité CAT au niveau des tiges après 14jours de traitement.	77
28	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GST au niveau des racines après 7jours de traitement.	78

29	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GST au niveau des racines après 14jours de traitement.	78
30	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GST au niveau des tiges après 7jours de traitement.	79
31	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GST au niveau des tiges après 14jours de traitement.	79
32	Effets des différents régimes NPK sur le taux MDA au niveau des racines après 7jours de traitement.	80
33	Effets des différents régimes NPK sur le taux MDA au niveau des tiges de blé après 7jours de traitement.	81
34	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GSH au niveau des racines après 7jours de traitement.	82
35	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GSH au niveau des racines après 14jours du traitement.	82
36	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GSH au niveau des tiges après 7jours du traitement	83
37	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GSH au niveau des tiges après 14jours du traitement	83
38	Schéma de l'électrode à oxygène	96
39	Enregistrement du métabolisme respiratoire des racines de blé soumises au traitement par les différents régimes NPK après 7jours du traitement.	97
40	Enregistrement du métabolisme respiratoire des racines de blé soumises au traitement par les différentes concentrations NPK après 14 jours du traitement.	98
41	Evolution de l'activité respiratoire des tiges issue de plantules de blé en présence de différents régimes de NPK. Après 7 jours du traitement.	99
42	Evolution de l'activité respiratoire des tiges issue de plantules de blé en présence des différents régimes NPK. Après 14jours du traitement	100

15	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux au niveau des racines après 14 jours de traitement.	48
16	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux au niveau des tiges après 7 jours de traitement.	49
17	Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux des feuilles après 14 jours de traitement.	50
18	Effet des différents traitements NPK sur le taux moyen de la proline des racines.	51
19	Effet des différents régimes NPK sur le taux moyen de la proline des tiges.	52
20	Variation de l'activité APX au niveau des racines chez les graines traitées par différentes régimes NPK après 7 jours de traitement.	72
21	Variation de l'activité APX au niveau des racines chez les graines traitées par différentes régimes NPK après 14 jours de traitement.	73
22	Variation de l'activité APX au niveau des tiges soumises à différents régimes NPK à près 7 jours de traitement.	73
23	Variation de l'activité APX au niveau des tiges chez les graines traitées par différentes proportion NPK après 14 jours de traitement.	74
24	Effets des différents régimes NPK sur l'activité CAT au niveau des racines après 7 jours de traitement.	75
25	Effets des différents régimes NPK sur l'activité CAT au niveau des racines après 14 jours de traitement.	75
26	Effets des différents régimes NPK sur l'activité CAT au niveau des tiges après 7 jours de traitement.	76
27	Effets des différents régimes NPK sur l'activité CAT au niveau des tiges après 14 jours de traitement.	77
28	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GST au niveau des racines après 7 jours de traitement.	78
29	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GST au niveau des racines après 14 jours de traitement.	78

30	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GST au niveau des tiges après 7jours de traitement.	79
31	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GST au niveau des tiges après 14jours de traitement.	79
32	Effets des différents régimes NPK sur le taux MDA au niveau des racines après 7jours de traitement.	80
33	Effets des différents régimes NPK sur le taux MDA au niveau des tiges de blé après 7jours de traitement.	81
34	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GSH au niveau des racines après 7jours de traitement.	82
35	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GSH au niveau des racines après 14jours du traitement.	82
36	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GSH au niveau des tiges après 7jours du traitement	83
37	Effets des différents régimes NPK sur l'activité GSH au niveau des tiges après 14jours du traitement	83
38	Schéma de l'électrode à oxygène	96
39	Enregistrement du métabolisme respiratoire des racines de blé soumises au traitement par les différents régimes NPK après 7jours du traitement.	97
40	Enregistrement du métabolisme respiratoire des racines de blé soumises au traitement par les différentes concentrations NPK après 14 jours du traitement.	98
41	Evolution de l'activité respiratoire des tiges issue de plantules de blé en présence de différents régimes de NPK. Après 7 jours du traitement.	99
42	Evolution de l'activité respiratoire des tiges issue de plantules de blé en présence des différents régimes NPK. Après 14jours du traitement.	100

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAUX	TITRES	PAGE
1	Consommation mondiale des engrais (FAO, 2005)	7
2	Production des engrais azotés dans le monde (FAO, 2005).	8
3	Production des engrais phosphatés dans le monde (FAO,2005).	8
4	Bilan mondial de l'offre et de la demande potentielle en Potasse (FAO, 2005).	8
5	Doses d'azote et de phosphore en fonction de la pluviosité (INVA-ITGC, 1997.)	10
6	Eléments d'intensification des techniques culturale (INVA-ITCMI, 2002.)	11
7	Caractéristiques morphologiques et culturales	28
8	Caractéristiques physique et chimique de NPK	29
9	Teneurs moyennes en protéine totales des racines et des tiges après 7 jours de traitement de NPK.	44
10	Valeur des potentiels redox et gamme de concentration des principaux couples redox rencontrés dans les cellules végétales (Foyer and Noctor, 2005a).	60
11	Présentation de quelques espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERA) radicalaires ou non (Halliwell, 2006).	91

LISTE DES ABREVIATIONS

ASC: Acide Ascorbique

APX: Ascorbate peroxydase

CAT: Catalase

CTE. Chaîne de transport d'électrons

DAP. Phosphate di ammoniacque

ERO: Espèce Reactive de Oxygène

FAO: food and Agriculture Organization

FNR : Ferrédoxine NADP Réductase

GSH: Glutathion réduit

GSSG: Glutathion disulfure

GST : Glutathion S transférase

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

INVA. Institut National de Vulgarisation Agricole.

ITCMI : Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles.

ITGC . Institut Technique des Grandes Culture

MDA : Malonedialdéhyde

POX : Peroxydase

SOD : Superoxyde Dismutase

Table de Matière

Résumé.....	I
Abstract.....	II
Résumé en arabe.....	III
Liste des Figures.....	VI
Liste des Tableaux.....	V
Liste des Abréviation.....	IV

Chapitre 1 : Généralité

Introduction.....	1
1. L'agriculture, source diffuse de pollution.....	3
1.1 L'agriculture, principale source d'azote dans l'eau.....	5
1.2 Les rejets domestiques, principale source de phosphore.....	6
2. La situation mondiale des engrais.....	6
2.1 Consommation.....	6
2.2 L'utilisation des engrais en Algérie.....	9
2.2.1 CÉRÉALES.....	9
2.3 La consommation des engrais en Algérie.....	12
3. Action des éléments minéraux sur les plantes.....	13
3.1 Les maladies de carence.....	13
3.1.1. La carences absolues.....	13
3.1.2. La carence induites ou carences conditionnées.....	13
3.2 Les toxicités.....	13

Chapitre 2 : Partie physiologique et Biochimique

1. Introduction.....	15
1.2 Répartition géographique du blé dur et origine génétique.....	16
1.3 Le stress des céréales.....	17
• Définition.....	17
• Source de stress.....	18
- Le stress oxydatif.....	18
- Stress hydrique.....	19
• Influence du stress hydrique sur le rendement du blé dur.....	20
*Mécanisme d'adaptation des plantes au stress hydrique.....	21
- Adaptation phénologique.....	21
- Adaptation physiologique.....	22
• La capacité photosynthétique.....	22
• La teneur en chlorophylle.....	23
*Mécanisme d'adaptation biochimique en condition de stress.....	23

- Accumulation de la proline en condition de stress.....	24
- Rôles des sucres solubles.....	24
- Synthèse des protéines liées à la tolérance au stress.....	26
2. Matériel et Méthodes.....	27
*Matériel expérimental.....	27
- Origine	27
2.1 Caractéristiques morphologiques et culturaux	28
• Condition techniques.....	29
• Productivité.....	29
2.2 Matériel chimique	29
Condition de Culture des graines.....	29
Traitement des graines.....	30
Mesure des paramètres germinatifs.....	30
Taux moyen de germination.....	30
Vitesse de germination.....	30
Nombre moyenne de racine.....	30
Longueur moyenne de racines.....	30
Mesure des paramètres biochimiques.....	31
Détermination de la teneur moyenne en eau.....	31
Détermination de la teneur moyenne en protéines.....	31
Détermination de la teneur moyenne en chlorophylle.....	31
Détermination des sucres solubles.....	32
Dosage de la proline.....	32
3. Résultats.....	34
Introduction.....	34
Effets des différents traitements NPK sur les paramètres physiologiques de la germination et la croissance.....	34
Effets sur les pourcentages de germination.....	34
Effets sur la vitesse de germination.....	35
Effets des différents traitements NPK sur le nombre moyen de racine.....	36
Effets des traitement NPK sur la longueur moyenne de racines.....	37

Effets des traitements NPK sur la longueur moyenne des tiges.....	39
Effets des traitements NPK sur les paramètres biochimiques de la germination.....	41
Effets sur la teneur moyenne en eau des racines.....	41
Effets des traitements NPK sur la teneur moyenne en eau des tiges de blé.....	42
Effets des différents traitements sur la teneur moyenne en protéines totales.....	43
Effet des différents traitements NPK sur la teneur moyenne en chlorophylle <u>a</u> et <u>b</u> des feuilles.....	44
Effet des différents traitements NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux.....	47
Effet des différents traitement NPK sur la teneur moyenne en proline.....	50
3. Discussion	53

Chapitre 3 : Partie enzymatique

Introduction.....	60
1.2 Les prooxydants.....	61
- La β -oxydation.....	62
1.3 Les principales sources enzymatiques.....	62
1.4 Les antioxydants.....	63
• Définition.....	63
1.5 Les principaux systèmes non enzymatiques.....	63
- L'ascorbate ou vitamine C.....	63
- Le Glutathion.....	64
1.5 Les principales enzymes antioxydantes.....	65
- Les superoxydes dismutases (SOD).....	65
- Les catalases (CAT).....	65
- Les enzymes du cycle Asada-Halliwell-Foyer.....	66
- Les peroxydases (POX).....	67
1. Matériel et méthodes	69
2.1 Dosages Enzymatiques.....	69
• Préparation de l'extrait enzymatique.....	69
- Mesure de l'activité Ascorbate-peroxydases (APX).....	69
- Quantification des mesures spectrophotométrique	70
- Dosage de l'activité Catalase (CAT).....	70
- Dosage de l'activité Glutathion S-Transférase (GST).....	71
2.2 Dosage non Enzymatique.....	71
- Dosage du taux de Glutathion (GSH).....	71
- Dosage du taux de La Malondialdehyde (MDA).....	71

2.3 Etude statistiques.....	71
3 Résultats.....	72
- L'effet des différents traitements NPK sur l'activité Ascorbate Peroxydase (APX).....	72
- Effet des différents traitements NPK sur l'activité catalase (CAT).....	75
- Effet des différents traitements NPK sur l'activité GST.....	77
Effet des différents traitements NPK sur le taux MDA.....	80
Effet des différents traitements NPK sur le taux de Glutathion (GSH).....	81
4. Discussions.....	85
Conclusion.....	89

Chapitre 4 : Métabolisme respiratoire

1. Introduction.....	90
1.2 Les Espèces Réactives de l'Oxygène.....	90
1.2.1 ERO ou radicaux libres.....	90
1.2.2 Les différents types d'ERO.....	90
• Les ERO primaires.....	90
• Les ERO secondaires.....	90
1.3 Production d'ERO lors des principaux processus métaboliques.....	91
1.3.1 Les chloroplastes et l'appareil photosynthétique.....	91
1.3.2 Les mitochondries et la chaîne respiratoire.....	93
1.4 La photorespiration.....	94
2. Matériel et Méthodes.....	95
2.1. Etude du métabolisme respiratoire.....	95
2.2. Etude du métabolisme photosynthétique.....	96
3. Résultats.....	97
3.1 Effet des différents traitements NPK sur le métabolisme respiratoire des racines.....	97
3.2 Effet des différents traitements NPK sur le métabolisme respiratoire des tiges.....	98
4. Discussion.....	96
5. Conclusion.....	96
Conclusion générale.....	103
Références bibliographiques.....	106

CHAPITRE 1:
INTRODUCTION GENERALE

Introduction

De nombreuses études récentes concernant l'utilisation des changements biochimiques, physiologiques et histologiques pour l'évaluation de l'exposition des organismes aux agents contaminants ont été menées. Les analyses chimiques des différents compartiments de l'environnement (eau, sol, sédiment, organisme) renseignent sur la présence ou l'absence d'un contaminant chimique et sur son cycle biogéochimique, mais ces informations sont néanmoins insuffisantes pour connaître l'impact réel du xénobiotiques (du grec *xenos* : étranger ; composés chimiques extérieurs à l'organisme) sur les organismes. (Grara et al, 2012)

La complémentarité des résultats obtenus par les analyses chimiques et biochimiques permet alors d'effectuer un diagnostic complet sur la source et l'impact d'une contamination sur un écosystème. Tel est l'objet des recherches développées par les chimistes et les biologistes, par ailleurs rassemblés au sein de deux groupes interdisciplinaires : La pollution chimique, chronique et diffuse, est difficile à évaluer avec des méthodes chimiques peu sensibles et des tests d'écotoxicité inadaptés à l'appréciation de la toxicité chronique de ces molécules, compte tenu de leur faible concentration dans le milieu naturel. Si l'on compare l'environnement d'un être vivant, comme l'homme par exemple, l'organisme humain peut faire l'objet de contrôles, d'apports en substances nocives, mais ces mesures sont insuffisantes pour une connaissance parfaite et une prédiction de l'état de sa santé. (Nyathi et Baker, 2006)

La recherche de symptômes, des effets biologiques en aval de l'impact de la molécule toxique sur la cible biologique permet d'évaluer globalement la santé d'un milieu, d'établir un diagnostic précis, de rechercher les causes des pathologies et d'entreprendre éventuellement une étape curative. Les effets biologiques peuvent être utilisés comme indicateurs biologiques ou biomarqueurs de pollution dans les règnes animal et végétal. (Grara et al, 2012). (Bouchelaghem et al, 2011)

Le choix d'un biomarqueur doit permettre de lier la toxicité d'un produit chimique à des effets écologiques. Ces biomarqueurs peuvent être non spécifiques et qui rendent compte de l'état de santé de l'organisme. Ce sont les protéines de stress, les marqueurs histologiques, immunologiques ou physiologiques (croissance, reproduction). Par exemple Les mesures de l'état physiologique global seront réalisées à l'aide de la fragilité des lysosomes, de la mesure des dommages causés à l'ADN ou de la quantification de la charge énergétique (teneur en adénosine di et tri phosphate : ADP et ATP), Merigout, 2006 et ceux comme les indices biochimiques seront plus spécifiques d'une classe de contaminants, voire même d'une substance particulière.

Pour les polluants métalliques, certains auteurs ont proposé d'utiliser la quantification d'une métalloprotéine particulière, la métallothionéine susceptible d'être induite de novo en présence des métaux tels que le Mercure et le Cadmium. Pour les xénobiotiques liposolubles organiques comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques ou les polychlorobiphényles (PCB), les biomarqueurs moléculaires sont basés sur l'oxydation par des enzymes, les monooxygénases, dépendantes du cytochrome P450, notamment l'activité éthoxyrésorufin-o-dééthylase (EROD). L'activité de l'acétylcholinestérase (enzyme qui hydrolyse l'acétylcholine, neurotransmetteur intervenant dans l'excitation rapide de la cellule musculaire) est inhibée par certains produits phytosanitaires issus pour l'essentiel de l'agrochimie (Pesticides, Carbamates) et se révèle être aussi un bon biomarqueur. (Clerc, 2006)

Certaines molécules utilisées comme biomarqueurs participent à une adaptation positive pour l'organisme en contribuant à rendre inoffensif pour l'individu le xénobiotique ; c'est le cas par exemple de la métallothionéine qui fixe les métaux toxiques tels que le Cadmium et le Mercure qui, ainsi complexés, ne présentent plus de danger. Par contre la dégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques ou des PCB par l'intermédiaire du système cytochrome P450 est la phase préliminaire à l'élimination de ces xénobiotiques mais peut, en parallèle, favoriser la formation des dérivés carcinogènes. (Zufferey et Febbraro, 2005).

Ainsi la réponse des biomarqueurs représente un nouvel outil qui n'est pas destiné à copier ou à remplacer la surveillance chimique, mais qui doit être intégré dans les programmes de surveillance complémentaires des indicateurs écologiques, les indicateurs biochimiques peuvent être des systèmes d'alarme précoces d'une contamination dont les effets sont encore réversibles.

Les sources de contamination du sol englobent les usines, les parcs à rebuts, les fosses à goudron de houille, les parcs à ferraille, les résidus miniers, les décharges municipales, les réservoirs de stockage souterrains qui fuient, les sites d'évacuation de déchets dangereux, les pesticides pulvérisés dans les champs, ainsi que les produits pétroliers et l'asphalte appliqués sur les routes et sur les terrains. (Cureton et al. 1992).

Les sols peuvent également être contaminés par les gaz d'échappement des véhicules automobiles, par les particules émises par les cheminées industrielles et par les dépôts atmosphériques de polluants.

La contamination du sol peut représenter pour les personnes non seulement un danger direct par ingestion, mais également des dangers indirects. Par exemple, certains produits chimiques dans le sol peuvent contaminer les eaux souterraines, les cours d'eau par les eaux de ruissellement. De plus, certaines cultures et certains légumes peuvent absorber les contaminants du sol, qui s'introduisent ainsi dans la chaîne alimentaire.

En ce qui concerne les contaminants volatiles, l'inhalation de vapeurs présentes dans les sous-sols constitue souvent le principal trajet d'exposition. Des composés organiques volatils se sont retrouvés dans des sous-sols d'habitations à cause de fuites dans des réservoirs de stockage souterrains qui laissent échapper des carburants à base de pétrole et dans des sites d'enfouissement de déchets dangereux où du chlorure de vinyle a été éliminé de façon inappropriée. Une fois dans le bâtiment, les vapeurs se mélangent à l'air des locaux et peuvent constituer un risque pour la santé des occupants.

La contamination du sol peut engendrer des problèmes à long terme en raison du coût élevé et de la difficulté d'éliminer les contaminants du sol.

1. L'agriculture, source diffuse de pollution

Dans les années à venir, la production agricole devra reprendre à un double défi, des besoins croissants de la population mondiale (tout en dégradant l'environnement et les ressources naturelles), en effet, selon les prévisions des Nations Unies, la population mondiale actuellement d'environ 6.3 milliards d'individus atteindra près de 08milliards d'individus en 2030 (FAO 2003).

La production agricole devra alors être significativement plus élevée. Les surfaces agricoles ayant atteint leur limite dans de nombreux pays, cette augmentation ne pourra se faire que par une augmentation des rendements. Cette augmentation du rendement ne peut se faire que par l'amélioration variétale et les techniques culturales associées, dont la fertilisation. En effet les engrais apportent aux végétaux cultivés les nutriments nécessaires à leur croissance. Les trois principaux sont: l'Azote (N), le Phosphore (P) et le potassium (K).

Les trois éléments que sont l'Hydrogène, le Carbone et l'Oxygène, nécessaires à l'activité de photosynthèse sont apportés par l'air et l'eau. Enfin, le Fer, le Soufre ou encore le Calcium sont puisés directement dans la terre.

Les produits azotés (nitrates) et les phosphates provoquent des déséquilibres dans les milieux qui reçoivent les eaux de ruissellement ou d'infiltration issues de l'agriculture. Ce sont des éléments qui nourrissent par excès des algues bien souvent indésirables qui prennent la place de toute autre forme de vie à cause de leur surdéveloppement. C'est une cause d'eutrophisation.

L'accumulation de tous ces éléments dans les cours d'eau peut avoir un impact important sur le milieu marin, à l'endroit même où se déversent des fleuves, ou bien par le retour des nappes souterraines qui forment des sources sous-marines ou proches du bord de mer. (Ramade,1995).

La contamination des eaux superficielles et profondes par les nitrates est due principalement à l'agriculture. Ces substances ont une toxicité aigue et chronique élevée pour l'homme et les animaux. Elles sont transformées en nitrites connus pour leur effet cancérigène puissant chez l'homme. Une fois la nappe phréatique contaminée par ces toxiques, il est difficile, voire pratiquement impossible de la décontaminer. La pollution causée par les phosphates des engrais a des conséquences néfastes, sur l'eutrophisation et la prolifération d'algues et de végétation aquatiques au niveau des eaux stagnantes ou de réservoirs de retenue, ce qui est à l'origine de nombreux problèmes notamment de goûts et d'odeurs des eaux. (Strosser et al., 2009).

D'un autre côté, les engrais ont un effet néfaste sur l'environnement en contaminant l'air par émissions des gaz tel que l'ammoniac, et peuvent polluer les eaux et les nappes phréatiques.

L'impact des polluants de l'eau sur l'environnement dépend de la quantité rejetée et de leurs caractéristiques physico-chimiques. On différencie les sources de pollution ponctuelles des sources diffuses. Alors que les premières sont des sources fixes et généralement d'émissions polluantes importantes, les sources diffuses se caractérisent par des apports de substances émises

par des sources mobiles, des sources couvrant de larges étendues ou un grand nombre de sources de pollution d'émission faible. Par exemple, les rejets d'eaux usées par des complexes industriels sont des sources ponctuelles d'azote, alors que l'agriculture est une source diffuse de pollution d'azote et de pesticides. Les pollutions par des sources ponctuelles sont souvent plus faciles à traiter (en installant par exemple un filtre au niveau du tuyau par lequel les produits polluants sont rejetés dans le milieu naturel), alors que les émissions polluantes provenant de sources diffuses sont difficiles à recenser, à mesurer et donc à contrôler. (Khaldi et al, 2009).

1.1 L'agriculture, principale source d'azote dans l'eau

L'azote dans l'eau sous forme de nitrates est un polluant car il favorise l'eutrophisation et peut affecter la santé humaine. Il existe des valeurs limites de concentration en nitrates admissibles dans l'eau potable. Sa valeur recommandée par l'Organisation Mondiale de la Santé est de 50 mg/litre. (Souiki, 2008)

La contamination de l'eau par les nitrates est un des principaux problèmes liés aux activités agricoles. Cela s'explique entre autre par le fait que les nitrates sont très solubles, et migrent facilement à travers les sols vers la nappe. Il est pourtant difficile de faire le lien entre l'apport en azote et la pollution de l'eau. Le lessivage des nitrates dépend aussi de facteurs géologiques, climatiques et biologiques. Il est favorisé dans des aquifères de roche poreuse et sous un climat humide. Les nitrates peuvent cependant être dénitrifiés par des microbes. Malgré ces phénomènes, un fort excès d'application de fertilisants se traduit toujours par une augmentation de nitrates dans l'eau. (Souiki et al, 2010)

Les nitrates et l'ammonium sont les formes d'azote les plus présentes dans les rivières, les nitrates à eux seuls représentant plus de 80% de l'azote total.

Les eaux usées industrielles contiennent également de l'azote, notamment les eaux rejetées par les fabricants d'engrais ou d'explosifs, les industries de traitements des métaux et les industries agro-alimentaires. (Souiki et al, 2010).

1.2 Les rejets domestiques, principale source de phosphore

Le phosphore, élément limitant de la croissance des plantes, est le principal facteur de l'eutrophisation et de la détérioration de la qualité des eaux. De très faibles teneurs en phosphore (quelques dizaines de mg/l) peuvent constituer un polluant dangereux. Ainsi, d'après la classification de l'eau de surface par l'ECE (Commission Economique pour l'Europe des Nations-Unies), l'eau est considérée comme moyennement eutrophisée à partir de 25 mg/l.

Le phosphore est analysé comme phosphate soluble et comme phosphore total. Il évolue rapidement vers des formes peu solubles comme les apatites. Une partie considérable du phosphore est adsorbée aux particules et à la matière en suspension. De ce fait, le sol joue un rôle de réservoir à phosphore et limite l'impact d'apports excédentaires. (Alpha et al., 2009).

Le phosphore est apporté par l'agriculture sous forme d'effluents d'élevage et d'engrais minéraux (Phosphates Calciques ou Ammoniques). L'usage de phosphore dans l'agriculture, lié à l'utilisation d'engrais, contribue ainsi à la pollution des eaux superficielles. (Alpha et al., 2009).

La majeure partie des réductions de rejets de phosphore observée ces dernières années sont à mettre au bénéfice des actions importantes de traitement des eaux usées domestiques et de réduction des rejets du secteur industriel. Le secteur agricole, quant à lui, n'est qu'au début d'une politique rigoureuse de contrôle de ses rejets phosphoriques, avec par exemple des actions d'amélioration de stockage des éjections animales et la mise en place de pratiques et itinéraires culturaux plus soucieux de l'environnement(Alpha et al., 2009)..

2. La situation mondiale des engrais

2.1 Consommation

La consommation mondiale d'engrais a augmenté de 1997/98 à 1999/2000, elle a diminué en 2000/01 d'environ 3% et, depuis, s'est accrue d'environ 3% (Tableau 1). De 2002/03 à 2003/04, la consommation d'engrais a diminué dans les pays développés (environ moins 12%) et a augmenté dans les pays en développement de 7,8%. Par rapport à 2002/03, la

consommation d'azote a augmenté de 1,4 pour cent, celle de phosphate a augmenté de 0,5% et celle de potasse de 10,3 %. (FAO, 2005)

Tableau 1: Consommation mondiale des engrais (FAO, 2005)

pays	1997-98	1998-99	1999-00	2000-01	2001-02	2002-03	2003-04
Consommation totale d'engrais (million de tonne)							
En voie de développement	83.1	85.3	88.2	86.7	87.2	91.3	98.4
Développés	54.1	52.9	52.3	49.8	50.9	50.3	44.2
Pourcentage (%)							
En voie de développement	60.6	61.7	62.8	63.5	63.1	64.5	69.0
Développés	39.4	38.3	37.2	36.2	36.9	35.5	31.0

La demande régionale et mondiale d'engrais pour les trois principaux éléments nutritifs à jusqu'à 2009/10 sont présentées dans les Tableaux (2), (3) et (4).

La demande devrait augmenter dans toutes les régions du monde sauf en Europe de l'Ouest, qui devrait montrer un léger recul pour chacun des trois éléments. Il est prévu que la demande mondiale d'engrais azotés augmentera de 1% par an jusqu'en 2010/11, soit une augmentation globale de 4,8 millions de tonnes.

Le taux de croissance annuel de la demande mondiale d'engrais phosphatés est estimé à environ 1,6 % jusqu'en 2010/11, soit une augmentation de 3,1 millions de tonnes par rapport à 2005/06. La demande mondiale d'engrais potassiques devrait se développer à un taux moyen annuel d'environ 1,8%, équivalent à une augmentation de 2,5 millions de tonnes.

Tableau 2. Production des engrais azotés dans le monde (FAO, 2005).

Total monde	2005-06	2006-07	2007-08	2008-09	2009-10
Capacité nationale de production de NH ₃	135939	140454	145135	148734	151355
Potentiel de production effective de NH ₃	119842	124192	128681	131999	134602
NH ₃ disponible pour les engrais (N)	96461	99983	103574	106003	107653
Consommation d'engrais azotés (N)	90732	91979	93163	94343	95509
Bilan des engrais azotés	5729	8004	10411	11660	12144

Tableau 3. Production des engrais phosphatés dans le monde (FAO, 2005).

Total monde	2005-06	2006-07	2007-08	2008-09	2009-10
Capacité nationale de production	41172	44807	45936	47416	49041
Potentiel de production effective	35887	37382	37976	39615	40910
Disponible pour la production d'engrais	30622	31902	32366	33856	35081
Consommation d'engrais phosphatés	27549	28617	29202	29861	30439
Demande de H ₃ P ₀ ₄ –engrais	9458	9420	9544	9591	9711

Tableau 4. Bilan mondial de l'offre et de la demande potentielle en Potasse (FAO, 2005).

Total monde	2005-06	2006-07	2007-08	2008-09	2009-10
Capacité nationale des mines de potasse	38694	35789	32379	26915	5465
Potentiel de production des mines de K	35789	36462	37244	38088	38560
Disponible pour les engrais	32379	33317	33788	34595	35067
Consommation d'engrais potassiques	26915	27692	28272	28853	29427
Bilan Potasse (déficit)	5465	5624	5515	5741	5640

2.2 L'utilisation des engrais en Algérie

Compte tenu du manque de bases de données et/ou de publications se rapportant à la fertilisation d'une manière générale et à l'utilisation des engrais par culture en particulier, il n'a pas été possible d'accéder à certaines informations. L'utilisation des engrais par l'agriculture n'est pas connue exactement, sauf pour les agriculteurs chargés du programme d'intensification des céréales et pour les agriculteurs cultivant la pomme de terre. (FAO, 2005)

Le Tableau (5) présente les doses d'azote et de phosphore recommandées en fonction de la pluviosité de la région concernée.

2.2.1 Céréales

Selon les données collectées pour la période 1983-91 par Djenane (1992), aussi bien pour la zone nord que pour la zone sud des hautes plaines Sétifiennes, les engrais les plus utilisés sont l'ammonitrate (33,5%) puis le NPK, les engrais TSP, PK et DAP sont d'usage aléatoire. Pour des raisons de disponibilité sur le marché et d'autres raisons (prix, transport, etc.), dans toute la région de Sétif, les quantités d'engrais apportées sont variables aussi bien dans le temps que dans l'espace. Durant cette période, ces quantités n'étaient, en aucun cas, définies ni en fonction des quantités d'éléments présentes dans le sol, ni en fonction des propriétés des sols, notamment leur possibilité de stockage et leur pouvoir fixateur.

Tableau 5. Doses d'azote et de phosphore utilisées en fonction de la pluviosité (INVA-ITGC, 1997.)

Pluviosité	< 400 mm		400-600 mm		> 600 mm	
Elément fertilisant	N	P ₂ O ₅	N	P ₂ O ₅	N	P ₂ O ₅
	kg/ha					
Jachère travaillée	34	46	67	92		
Fourrages	34	46	67	92	100	92
Légumes secs			67	92	100	92
Pomme de terre irriguée			34	46	67	92
Blé	34	46	67	46	100	92

ITGC I. Institut Technique des Grandes Culture

INVA. Institut National de Vulgarisation Agricole.

Dans un travail mené durant les années 90 sur le statut du phosphore dans les sols céréaliers des hautes plaines Sétifiennes, la fertilisation phosphatée dans ces sols, telle que pratiquée, entraînait un certain gaspillage. Elle ne profite pas totalement à la plante du fait du fort pouvoir fixateur des sols vis-à-vis de cet élément. Pour l'azote, il est difficile d'apprécier l'effet des doses proposées (34 et 67 unités) car, d'une part, on n'était pas sûr qu'elles étaient respectées, d'autre part, on ignorait, à l'époque, le contenu azoté initial des sols. En conditions expérimentales, il était établi, dans la région, que la dose de 34 unités favorise le rendement en grains alors que la dose de 67 unités favorise la biomasse et donc la production de matière sèche. Pour le potassium, on ne disposait, à l'époque, d'aucune information.

Le Tableau (6) présente les éléments d'intensification des techniques culturales dans les exploitations céréalières. Environ un quart des exploitations céréalières utilise des engrais et/ou du fumier.

La jachère reste une technique culturale fréquemment utilisée: 286 915 exploitations céréalières, soit 48,7 %, la pratiquent.

Les techniques culturales recommandées - et appliquées dans les zones potentielles soumises à des programmes d'intensification- ont permis une meilleure productivité. Dans le domaine céréalier, la moyenne de rendement avoisine les 1200 kg, alors que des pointes à 5000 kg sont souvent obtenues. La moyenne conseillée d'utilisation des deux principaux engrais (N et P₂O₅) oscille entre 50 et 100 kg d'éléments nutritifs pour les deux types d'engrais. Cependant cette pratique n'est pas généralisée. Elle n'est effective que chez les agriculteurs avertis et uniquement au niveau des zones «potentielles» et pour une diversité de cultures annuelles assez conséquente. La pratique de techniques de conduite plus rationnelles des cultures a stabilisé la production à un niveau appréciable mais qui reste en deçà des potentialités. L'utilisation des engrais est sûrement la technique qui a contribué le plus à l'augmentation des rendements des céréales.

Tableau 6. Eléments d'intensification des techniques culturale (INVA-ITCMI, 2002.)

Exploitations utilisant:	Nombre	Pour cent*
Semences sélectionnées	87 442	14,9
Semoir	62 193	10,6
Fumier	136 416	23,2
Engrais N et P ₂ O ₅	142 462	24,2
Herbicides	87 486	14,9
Pratiquant la jachère	286 915	48,7

* Pour cent par rapport au nombre des exploitations céréalières.

ITCMI : Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles.

Il en est de même pour la pomme de terre, où on assiste à une utilisation intensive des engrais (NPK) et dont les rendements oscillent entre 15 et 40 tonnes par hectare en fonction des zones et des degrés d'intensification et de conduite. La superficie allouée à la pomme de terre est certes réduite par rapport aux céréales (100000 ha par rapport à 3,5 millions d'ha) mais elle est très consommatrice d'engrais.

Dans toutes les conditions, l'engrais azoté reste le plus utilisé, probablement de par son effet instantané et remarquable sur les cultures de céréales et dont l'impact sur la culture est mesurable (visible), à l'inverse des autres engrais dont l'effet sur les cultures n'est pas apparent. Un effort de vulgarisation est à faire dans ce sens pour mettre en exergue la synergie et la complémentarité des engrais. Dans les zones arides et semi-arides, le phosphore et le potassium sont essentiels pour l'amélioration de la tolérance à la sécheresse et l'assimilation de l'azote.

2.3 Consommation des engrais en Algérie

L'Algérie, malgré ses richesses, ses potentialités et ses capacités, utilise peu d'engrais comparativement au Maroc (Asmidal, 2004) (Figure 1). L'utilisation semble se stabiliser autour de 45 unités d'éléments nutritifs/ha, mais reste en deçà des normes d'intensification des cultures et d'amélioration de la productivité. Au long des années, ce manque n'est expliqué que par la pluviosité, certes un facteur prépondérant, mais mal mis à profit par la faiblesse d'utilisation des engrais, paramètre essentiel de productivité et de qualité.

Actuellement l'agriculture algérienne ne consomme que 100000 tonnes d'éléments fertilisants environ par an alors que, selon la moyenne mondiale, la consommation devrait se situer à 850000 tonnes par an (Asmidal, 2004).

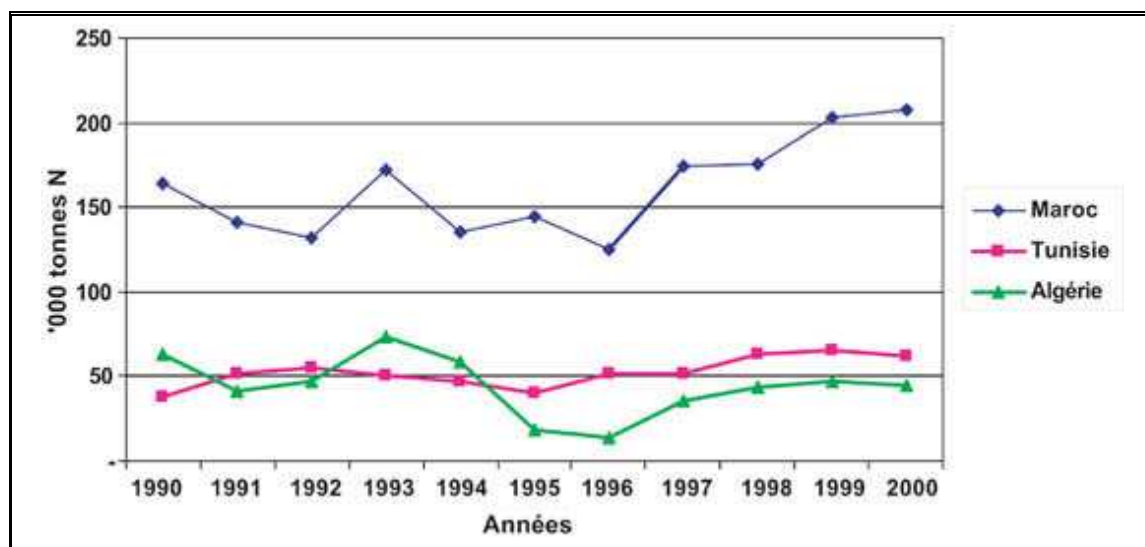


Figure 1. Tendence de l'utilisation des engrais en Afrique du Nord (1990-2000). (ASMIDAL, 2004)

A titre d'exemple, les besoins des 2,5 millions d'hectares de cultures céréalières, à raison de 72 kg de N, 27 kg de P_2O_5 et 65 kg de K_2O par hectare, seraient de 410500 tonnes d'éléments nutritifs (2,5 millions de tonnes d'engrais) dont N 180000 tonnes, P_2O_5 68000 tonnes et K_2O 162500 tonnes.

3. Action des éléments minéraux sur les plantes

3.1 Les maladies de carence : Elles sont dues à l'insuffisance d'un élément minéral. On peut distinguer :

3.1.1. La carence absolue ou primaire ; quand l'élément manque dans le sol. (Alpha et al., 2009).

3.1.2. La carence induite ou carence conditionnée ; quand l'élément existe en abondance mais ne peut être absorbé en raison des conditions physico-chimiques du sol. C'est souvent une question de pH. Dans ce cas, il ne suffit pas d'apporter l'élément pour qu'il soit assimilé. Car il peut être bloqué rapidement dans le sol. (Alpha et al., 2009).

3.2 Les toxicités

Une toxicité peut apparaître quand les éléments deviennent trop solubles ou trop disponibles. Cela se produit habituellement dans des conditions extrêmes : inondation, engorgement et réduction ; acidité, alcalinité ou bien en présence d'une teneur exceptionnellement élevée d'un élément soluble ou assimilable. (Alpha et al., 2009).

Deux mécanismes peuvent entraîner la toxicité d'un élément :

- Soit il est absorbé et s'accumule dans la plante en empêchant son fonctionnement normal.
- Soit il n'est pas absorbé mais sa présence dans le sol ou la rhizosphère empêche l'assimilation d'autres éléments induisant ainsi des carences ; cet effet peut résulter de la diminution de la solubilité de la précipitation des éléments utiles, ou bien d'un rapport déséquilibré entre l'élément toxique et l'élément utile, ou encore la formation d'un précipité à la surface de la racine. (Alpha et al., 2009).

C'est dans ce sens que s'inscrit un travail de recherche ; il concerne l'évaluation des effets toxiques des engrais sur les végétaux ; nous avons entrepris d'une part ; l'étude de l'impact de différents régimes de NPK sur les paramètres morpho physiologiques du blé ; et d'autre part sur les paramètres métaboliques et enzymatiques. En effet, très peu de travaux de recherche ont concerné l'étude de l'impact des engrais et plus particulièrement l'impact de ces polluants sur l'homme et l'environnement. Dans ce contexte la nous citons les travaux récents de (Khaldi et al, 2009) qui montrent que le NPK a un effet inhibiteur sur la synthèse de plusieurs enzymes chez les plantes inférieures (Mousses et Lichens).

Notre choix s'est porté sur le blé, comme **modèle végétal**, facile à cultiver et dont le développement racinaire est rapide dans des conditions in vitro. En effet, ce modèle s'adapte facilement aux études d'impact des xénobiotiques sur les végétaux.

Nous avons choisi les NPK pour leur large utilisation et sur l'absence de données sur la réponse des racines vis-à-vis de cet engrais par le biais du métabolisme respiratoire pas/ou elle peu étudié.

Pour cela notre travail de thèse est structuré en quatre Chapitres :

Chapitre 1 : Une introduction générale est consacrée aux études des interactions entre contaminants de sol d'origine agricole et les plantes.

Chapitre 2 : Une description de l'évolution des paramètres morpho-physiologiques et biochimiques du blé traité par différents régimes de NPK.

Chapitre 3 : Etude des mécanismes biochimiques de défense notamment le système antioxydant chez le blé *Triticum durum*.

Chapitre 4 : Description de l'évolution des paramètres métaboliques (photosynthèse et respiration) du blé traité par différents régimes de NPK.

CHAPITRE 2:

PARTIE PHYSIOLOGIQUE ET BIOCHIMIQUE

2. Introduction

Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) est une plante annuelle de la classe des Monocotylédones de la famille des Graminées, de la tribu des Triticées et du genre *Triticum* (Feillet, 2000). En termes de production commerciale et d'alimentation humaine, cette espèce est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre. Leur famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces (Feillet, 2000).

Il s'agit d'une graminée annuelle de hauteur moyenne et dont le limbe des feuilles est aplati. L'inflorescence en épi terminal se compose de fleurs parfaites (Soltner, 1998).

Le système racinaire comprend des racines séminales produites par la plantule durant la levée, ainsi que des racines adventives qui se forment plus tard à partir des noeuds à la base de la plante et constituent le système racinaire permanent (Bozzini, 1988). Le blé dur possède une tige cylindrique, dressée, habituellement creuse et subdivisée en entre noeuds.

Certaines variétés possèdent toutefois des tiges pleines. Le chaume (talles) se forme à partir de bourgeons axillaires aux noeuds à la base de la tige principale (Bozzini, 1988).

Le nombre de brins dépend de la variété, des conditions de croissance et de la densité de plantation (Clark et al, 2002). Comme pour d'autres graminées, les feuilles de blé dur se composent d'une base (gaine) entourant la tige, d'une partie terminale qui s'aligne avec les nervures parallèles et d'une extrémité pointue. Au point d'attache de la gaine de la feuille se trouve une membrane mince et transparente (ligule) comportant deux petits appendices latéraux (oreillettes) (Bozzini, 1988).

La tige principale et chaque brin portent une inflorescence en épi terminal. L'inflorescence du blé dur est un épi muni d'un rachis portant des épillets séparés par de courts entre nœuds (Soltner, 1998). Chaque épillet compte deux glumes (bractées) renfermant de deux à cinq fleurs distiques sur une rachéole. Chaque fleur parfaite est renfermée dans des structures semblables à des bractées, soit la glumelle inférieure (lemma ou lemme) et la glumelle supérieure (paléa). Chacune compte trois étamines à anthères biloculaires, ainsi qu'un pistil à deux styles à stigmates plumeux. À maturité, le grain de pollen fusiforme contient habituellement trois noyaux. Chaque fleur peut produire un fruit à une seule graine, soit le caryopse (Bozzini, 1988). Chaque graine contient un large endosperme et un embryon aplati situé à l'apex de la graine et à proximité de la base de la fleur (Soltner, 1998).

1.2. Répartition géographique du blé dur et origine génétique

En ce qui concerne la localisation de la domestication du blé, on considérait jusqu'à aujourd'hui qu'elle avait eu lieu dans le Croissant fertile, vaste territoire comprenant, selon les auteurs, la vallée du Jordanie et des zones adjacentes de Palestine, de la Jordanie et de l'Iraq, voire de la bordure Ouest de l'Iran. Sur la base de divers éléments botaniques, génétiques et archéologiques, que le creuset de notre céréaliculture se situerait en une zone plus limitée dudit Croissant fertile, localisée autour de l'amont du Tigre et de l'Euphrate, dans des territoires actuels de la Syrie et de la Turquie. On croit que le blé dur provient des territoires actuels de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran (Feldman, 2001).

Génétiquement, le blé dur est allotétraploïde (deux génomes: AABB), comptant au total 28 chromosomes ($2n = 4x = 28$), contenant le complément diploïde complet des chromosomes de chacune des espèces souches. Comme telle, chaque paire de chromosomes du génome (A) a une paire de chromosomes homologues dans le génome (B), à laquelle elle est étroitement apparentée (Wall et al., 1971). Toutefois, durant la méiose, l'appariement des chromosomes est limité aux chromosomes homologues par l'activité génétique de gènes inhibiteurs (Wall et al., 1971).

Les analyses cytologiques et moléculaires laissent croire que les sous-espèces de *Triticum turgidum* seraient issues de l'hybridation naturelle de *Triticum monococcum* L. subsp. *boeoticum* (Boiss) (synonyme : *Triticum urartu* : AA, 14 chromosome) avec une espèce de blé diploïde inconnue contenant le génome (B) (Feldman, 1976). Selon Kimber et Sears, (1987) une ou plusieurs des cinq espèces diploïdes de la section *Sitopsis* du genre *Triticum* pourraient avoir fourni le génome (B) aux blés polyploïdes. D'après l'analyse moléculaire, le génome de *Triticum speltoides* s'apparente plus au génome (B) du blé dur et du blé tendre (Talbert et al., 1995). En outre, l'analyse de l'ADN des chloroplastes montre que *Triticum speltoides* est probablement le donneur maternel du blé dur (Wang et al., 1997). Le résultat de cette hybridation naturelle est l'amidonnier sauvage (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* (Korn.) (Thell)), qui a été domestiqué plus tard sous la forme du blé amidonnier (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* (Schrank) (Thell)), qui s'est répandu du Proche-Orient jusqu'aux grandes régions productrices de la Méditerranée et du Moyen-Orient, y compris en Égypte et en Éthiopie (Feillet, 2000).

Des milliers d'années de culture et de sélection ont abouti à la formidable variabilité de blé tétraploïde issu de l'amidonnier sauvage. Un certain nombre de sous-espèces ont donc été caractérisées, principalement d'après les caractères morphologiques (Feldman, 2001): *Triticum turgidum* ssp. *paleocolchicum*, *Triticum turgidum* ssp. *polonicum*, *Triticum turgidum* ssp. *turanicum*, *Triticum turgidum* ssp. *carthlicum*, *Triticum turgidum* ssp. *turgidum* et *Triticum turgidum* ssp. *durum*.

1.3. Le stress des Céréales

- **Définition**

Les stress environnementaux nés de la fluctuation des facteurs abiotiques (sécheresse, salinité, basse température) affectent les conditions de croissance et le rendement végétal, les végétaux perçoivent les signaux environnementaux et les transmettent à la machinerie cellulaire pour activer des mécanismes de réponses. La connaissance de ces réponses, basée sur la transduction des signaux de stress, est donc la base des études visant à améliorer la réponse des plantes cultivées dans différents stress (Laurent et Ahmed, 1991).

La voie de transduction du signal commence par sa perception de la membrane végétale, suivi par la production de seconds messagers et de facteurs de transcription. Ces facteurs de transcription contrôlent alors l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress, incluant des changements morphologiques, biochimiques et physiologiques.

- **Source de stress**

Il ya différents sources de stress aux quelle les plantes peuvent être soumises; principalement le stress hydrique et le stress oxydant.

- **Le stress oxydatif**

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres (Lesgards, 2000). L'oxygène est à l'origine d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) les molécules ayant à la fois des effets bénéfiques et délétères conduisant à la mort cellulaire. Pour se protéger de cette toxicité et pour permettre aux ERO d'intervenir dans la réponse physiologique, les plantes ont développé des mécanismes antioxydants contrôlant l'accumulation des ERO ; on connaît plusieurs sources d'ERO dans les différents compartiments de la cellule végétale (Favier. 2003).

Les ERO sont produites lors d'activités métaboliques telles que la photosynthèse et la respiration, et en réponse aux stress environnementaux. La principale source est la chaîne de transporteur des électrons de la machinerie photosynthétique (PS) au niveau du PSI, le transfert sur le dioxygène d'un électron provenant des transporteurs d'électron produit O_2^- . A partir de cette première espèce formée, d'autre ERO sont produites. Cette réaction évite que le transporteur d'électrons de la chaîne ne soie trop réduit, limitant ainsi le phénomène de photo-inhibition, cependant, dans des conditions de stress environnementaux, la production de ERO lors de la photosynthèse devient néfaste pour la cellule. Au niveau de la mitochondrie, les transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire sont également susceptibles de céder un électron au dioxyde d'oxygène pour former O_2^- . Ces réactions dites d'auto-oxydations des complexes d'électron de la chaîne respiratoire permettraient de dissiper un excès d'électrons. Le peroxysome est également une source d'ERO. (Favier, 2003).

Lors de la photorespiration, la ribulose 1,5 biphosphate carboxylase/oxygénase peut utiliser le dioxygène pour produire deux glycolates à partir de ribulose 1,5 biphosphate. Le glycolate est alors transporté depuis le chloroplaste jusqu' au peroxysome, la glycolate peroxydase produit alors le peroxyde d'hydrogène en transformant la glycolate en glycoxylate. Dans cet organisme, la β acide gras oxydase et la xanthine oxydase sont également des enzymes qui produisent respectivement H_2O_2 et O_2^- (Mittler et al., 2004).

- Le Stress hydrique

Le stress hydrique implique soit un déficit en eau pour les plantes durant la saison de croissance, soit un excès d'eau dans les sols. Un excès d'eau (état de saturation), tout comme un déficit en eau, affecte les rendements des cultures. Les excès d'eau peuvent engendrer une détérioration des propriétés physiques du sol et les rendent plus vulnérables à la dégradation.

Un stress hydrique est les conditions de l'environnement (liés à l'eau) qui entraînent une diminution du développement et/ou de la qualité de produit en deçà du potentiel génétique de la plante. Il est à noter qu'une contrainte hydrique ne génère pas systématiquement un stress, tout dépend de l'acclimatation, et de l'adaptation de la plante, la tolérance et la stratégie qui permet à la plante d'assurer ses fonctions physiologiques malgré une dégradation de son état hydrique. Le maintien de la turgescence lors d'un déficit hydrique permet de retarder la fermeture des stomates (Passioura, 1996), de maintenir le volume chloroplastique et de réduire le flétrissement foliaire (Medrano et al. 2003), cette aptitude confère à la plante une meilleure tolérance au déficit hydrique interne.

Cette tolérance au déficit hydrique interne permet un fonctionnement prolongé de la photosynthèse. Les produits carbonés peuvent alors être utilisés autant pour l'ajustement osmotique que la croissance racinaire.

Une autre conséquence du maintien du métabolisme carboné sera une diminution de la fréquence des épisodes de photo-inhibition. Au niveau cellulaire, l'ajustement osmotique joue un rôle déterminant dans le maintien de la turgescence aux faibles potentiels hydriques foliaires.

Les capacités d'ajustement osmotique sont variables chez les plantes et dépendent de la variété, des modalités d'installation du déficit hydrique et de l'âge de la feuille (Rodrigues et al., 1993). Les solutés impliqués sont essentiellement des ions inorganiques, des sucres solubles, des acides aminés et organiques (Patakas et Noitsakis, 1999). La tolérance à la sécheresse est le résultat de mécanismes physiologiques, biochimiques et moléculaires complexes. L'expression de différents gènes et l'accumulation de divers osmolytes (l'ajustement osmotique) couplé à un système antioxydant sont souvent les principaux mécanismes de tolérance au déficit hydrique (Tardieu, 2005).

- **Influence du stress hydrique sur le rendement du blé dur**

Un stress hydrique se traduit par une réduction de la croissance de la plante et de sa production par rapport au potentiel du génotype. Un stress hydrique précoce affecte en parallèle la croissance des racines et des parties aériennes, le développement des feuilles et des organes reproducteurs (Debaeke et al., 1996).

Le rendement en grains chez le blé dépend fortement du nombre de grains par épi, du poids de grains par épi et du nombre d'épis par m² (Triboï, 1990). L'effet du déficit hydrique sur ces composantes et par conséquent sur le rendement, dépend du stade au cours duquel ce déficit survient (Debaeke et al., 1996). Ainsi, un déficit hydrique à la montaison se traduit par la chute du nombre d'épis par m², la régression intense des tailles et la baisse du nombre de grains par épi. À la fin de la montaison, 10 à 15 Jours avant l'épiaison, la sécheresse réduit le nombre de fleurs fertiles par épillet (Debaeke et al., 1996).

Le manque d'eau après la floraison, combiné à des températures élevées, entraîne une diminution du poids de 1000 grains par altération de la vitesse de remplissage des grains et de la durée de remplissage (Triboï, 1990). Au cours du remplissage des grains, le manque d'eau a pour conséquence une réduction de la taille des grains (échaudage), réduisant par conséquent le rendement (Gate et al., 1993). Ainsi, le risque de stress hydrique est-il possible presque durant tout le cycle biologique de la céréale. Par ailleurs et pour bien se développer, la plante doit disposer de mécanismes d'adaptation qui lui permettent de supporter le stress hydrique.

*** Mécanisme d'adaptation des plantes au stress hydrique**

Pour lutter contre le manque d'eau, les plantes développent plusieurs stratégies adaptatives qui varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu (Esquive, évitement et tolérance) (Turner, 1986). La résistance d'une plante à une contrainte hydrique peut être définie, du point de vue physiologique, par sa capacité à survivre et à s'accroître et du point de vue agronomique, par l'obtention d'un rendement plus élevé que celui des plantes sensibles (Madhava Rao et al., 2006). La résistance globale d'une plante au stress hydrique apparaît comme le résultat de nombreuses modifications phénologiques, anatomiques, morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de la production (Hsissou, 1994).

- Adaptation phénologique

Pour éviter les périodes difficiles pour la croissance et le développement, certaines variétés accomplissent leur cycle de développement avant l'installation de stress hydrique. La précocité constitue donc un important mécanisme d'évitement au stress hydrique de fin de cycle (Ben Naceur et al., 1999).

Dans ces conditions, les paramètres phénologiques d'adaptation ou paramètres de précocité définissent le calage du cycle vis-à-vis des contraintes environnementales. La précocité assure une meilleure efficacité de l'utilisation de l'eau. En effet, en produisant la biomasse la plus élevée, les génotypes à croissance rapide et à maturité précoce utilisent mieux l'eau disponible et ils sont moins exposés aux stress environnementaux que les génotypes tardifs (Bajji, 1999). Le rendement en grains est positivement corrélé à la précocité d'épiaison (Gonzalez et al., 1999). En effet, les variétés qui ont une vitesse de croissance élevée ont la capacité de mieux utiliser les sources nutritives à la fin du cycle de développement lorsque celles-ci deviennent limitantes (Poorter, 1989).

La précocité de l'épiaison peut donc être utilisée comme critère de sélection pour améliorer la production dans les zones sèches. C'est l'un des traits les plus importants dans l'adaptation des plantes au stress hydrique (Ben Salem et al., 1997).

- **Adaptation physiologique**

• **La capacité photosynthétique**

La cinétique de la fluorescence chlorophyllienne est utilisée pour étudier les effets des stress abiotiques sur le rendement de la photosynthèse et principalement sur l'activité des photosystèmes PSII (Krause et Weis, 1991). Djekoun et Planchon, (1991) ont confirmé l'intérêt des mesures *in vivo* de la fluorescence chlorophyllienne pour l'étude de l'adaptation des plantes cultivées aux contraintes de l'environnement.

Les investigations basées sur des évaluations de la fluorescence chlorophyllienne ont prouvé que le PSII est tout à fait résistant au stress hydrique. Une grande partie du stress hydrique a été orientée pour diriger les effets de la déshydratation sur les réactions biochimiques de la photosynthèse (Heitholt et al., 1991).

Pendant que les teneurs en eau des feuilles diminuent, une diminution d'efficacité photochimique de PSII et du transport d'électron se produit (Giardi et al., 1996). Ceci peut être dû aux dommages des centres de réaction de PSII, mais peut également être provoqué par la diminution de la capacité de transport d'électron de PSII (Osmond, 1994). La majeure partie de la variation de l'utilisation d'énergie pour la photochimie pendant un stress hydrique peut être expliquée en termes de variation de l'efficacité de la capture d'électron par les centres ouverts de PSII (Cornic et Fresneau, 2002). Yakhlef et Djekoun, (2000) suggèrent que la survie des plantes au manque d'eau est en partie due à l'entretien de la capacité photosynthétique des feuilles, permettant le rétablissement rapide des plantes suite à une période de stress hydrique.

- **La teneur en chlorophylle**

Il est clairement exposé dans la littérature que la photosynthèse et les échanges gazeux des feuilles sont affectés par plusieurs stress dont, la salinité, le stress hydrique, le stress métallique, la compaction du sol, une nutrition inadéquate...etc. (Tripathi et Tripathi, 1999).

Sous un stress hydrique, une diminution de la teneur en chlorophylle est remarquée chez le blé dur (Bousba et al., 2009). Pour limiter les pertes en eau par évaporation et aussi l'augmentation de la résistance à l'entrée du CO₂ atmosphérique nécessaire à la photosynthèse, l'économie de l'eau se traduit par une turgescence relative moins affectée par le stress conduisant à une dilution de la chlorophylle (Slayter, 1974). Le rapport chlorophylle (a/b) est un bon indicateur du seuil de tolérance au stress hydrique (Guettouche, 1990). Tahri et al., (1998) mettent en évidence une augmentation de la teneur en proline foliaire sous l'effet du stress suivie par un abaissement dans les teneurs en pigments chlorophylliens totaux (Chlorophylles a et b).

Les résultats de Tahri et al., (1998) révèlent une certaine proportionnalité, mais inverse, entre les teneurs en proline accumulées et les teneurs en pigments chlorophylliens perdues. Ainsi la variété qui accumule plus de proline est aussi celle qui connaît la plus forte diminution de ses teneurs en pigments chlorophylliens et vice versa (Tahri et al., 1998).

***Mécanisme d'adaptation biochimique au stress**

- **Accumulation de la proline en condition de stress**

L'accumulation de la proline constitue aussi un véritable mécanisme de tolérance au stress (Slama et al., 2004). L'existence chez les céréales d'une variation intraspécifique pour l'accumulation de la proline sous l'effet du stress hydrique suggère la possibilité d'une sélection, sur la base de ce caractère, des génotypes qui auront une bonne capacité à survivre et un rendement en grains stable en conditions hydriques limitantes (Bergareche et al., 1993). Pour cette raison, certains auteurs, Bellinger et al., (1991) ont proposé l'accumulation de la proline comme technique de sélection.

Selon un autre point de vue, l'accumulation de proline n'est pas une réaction d'adaptation au stress, mais plutôt le signe d'une perturbation métabolique (Hanson et al., 1977; Hernandez et al., 2000).

L'origine de la proline accumulée sous stress n'est pas totalement éclaircie. Elle est soit synthétisée de nouveau à partir de l'acide glutamique (Glu) ou via l'ornithine (Orn), qui sont utilisés comme précurseurs (Samaras et al., 1995). Les hydrates de carbone peuvent être des facteurs essentiels dans l'accumulation de la proline, car la synthèse des protéines est liée automatiquement au métabolisme des glucides et à la respiration (dans le cycle de Krebs) par l'intermédiaire l' α cétooglutarate qui forme le statut carbonique pour la synthèse de la proline (Chaib, 1998).

L'addition de l'ornithine dans le milieu de culture augmente la source de la proline par l'intermédiaire de l'enzyme ornithine amino-transférase (Chaib, 1998). Savouré et al. (1995) montrent chez *Arabidopsis* que l'augmentation de transcrits de la P5CR (Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthétase) est corrélée à une augmentation de proline. De plus, cet auteur a montré que cette augmentation était directement reliée à l'application du stress. En effet, lors de la phase de récupération juste après l'application du stress, le contenu en proline diminue en même temps que la quantité de transcrits correspondant à la P5CR (Δ 1- pyrroline-5- carboxylate synthétase). L'induction de ce gène est directement reliée à la régulation du taux de proline dans les cellules en fonction du stress.

L'accumulation de la proline induite par les stress, peut être le résultat de trois processus complémentaires : stimulation de sa synthèse; inhibition de son oxydation et/ou altération de la biosynthèse des protéines. (Tahri et al., 1998).

- Rôles des sucres solubles

Les sucres jouent un rôle prédominant dans la vie d'une plante, ils sont produits par la photosynthèse, transportés vers les tissus profonds, canalisés vers la respiration ou convertis en composés de réserve qui sont éventuellement dégradés en leurs constituants carbohydrates.

L'accumulation des sucres solubles est un moyen adopté par les plantes en cas de stress, à fin de résister aux contraintes du milieu (Bajji et al., 1998). Les sucres ont été signalés comme des osmorégulateurs potentiels (Kameli et Losel, 1995; Sanchez et al., 1999). Ils jouent un rôle important dans l'ajustement osmotique, lequel est considéré comme une réponse adaptative des plantes aux conditions de déficit hydrique (Zhang et al., 1999) et stress salin (Ait Haddou ,2002 ; Abdul, 2004).

Ils peuvent protéger les membranes et les protéines contre la déshydratation en incitant la formation d'une sorte de verre aux températures physiologiques (David et al., 1998). Les sucres accumulés pendant le stress vont probablement être utilisés dans la croissance après la levée de cette contrainte (Kameli et Losel, 1995).

Selon Clifford et al. (1998), l'accumulation des sucres solubles peut résulter d'une augmentation de l'hydrolyse de l'amidon puisqu'ils ont enregistré, simultanément, une diminution de l'amidon et une accumulation de sucres solubles dans les tissus stressés. IL a été montré que le malate pouvait représenter plus de 20% des sucres solubles dans les feuilles de Renoncule alpine acclimatées à la combinaison froid et lumière, et que cette teneur chutait significativement après dé-acclimatation. Par opposition, la teneur extrêmement élevée en ascorbate - molécule antioxydante - chez la Soldanelle alpine semble moins dépendante des conditions environnementales.

D'autres métabolites primaires, comme le méthyl-beta-D glucose, dont la présence en grande quantité chez certaines espèces alpines est tout à fait nouvelle, ne sont peut-être pas directement impliqués dans les mécanismes photo protecteurs mais pourraient jouer un rôle de puits de carbone au sein des tissus photosynthétiques (Cornic et al., 2005) .

Le potentiel osmotique peut être maintenu pour un stress hydrique de faible ou moyenne intensité, par ajustement osmotique. Les sucres peuvent servir de composés solubles compatibles pour cet ajustement osmotique, comme de nombreuses autres molécules (proline, glycine-bétaïne ou pinitol).

D'après Bensari et al., (1990) lorsque la contrainte hydrique cesse, la feuille reconstitue les réserves d'amidon et si une nouvelle contrainte hydrique intervient, le temps d'adaptation est plus court.

En effet, Hare et Cress, (1997) remarquent que les sucres glucose, fructose et le saccharose représentent des osmotocums beaucoup moins puissants que la proline, ils participent eux aussi au maintien de la balance de la force osmotique.

Par ailleurs, il a été observé que sous stress hydrique, les réserves amylacées sont progressivement utilisées suite à leur conversion rapide en saccharose qui pourra être associé à une inhibition de la synthèse de l'amidon (Geigenberger et al., 1997). Ainsi, les enzymes liés au métabolisme des sucres semblent avoir une importance majeure dans la tolérance au stress hydrique (Geigenberger et al., 1997).

L'implication des sucres dans la tolérance au stress hydrique a été mise en évidence par les corrélations observées entre le contenu en certains sucres et l'acquisition de la tolérance (Déjardin et al., 1999).

De nombreuses études ont mis en évidence l'accumulation de sucres solubles lors de la dessiccation. Une idée principale en ressort différents sucres solubles peuvent être présents dans des tissus bien hydratés, mais le saccharose est préférentiellement accumulé dans les tissus en déshydratation (Déjardin et al., 1999).

- Synthèse des protéines liées à la tolérance au stress

Les protéines de stress jouent un rôle dans l'adaptation de la plante et de ce fait de nombreux chercheurs abordent la résistance au stress par l'isolement et l'étude de ces molécules (Campalans et al., 1999). Schulze et al., (2005) ont montré qu'une partie des protéines induites ont une fonction directe dans l'augmentation de la tolérance au stress (protéines fonctionnelles), d'autres ont une fonction dans la chaîne de transduction (protéines régulatrices) qui aboutiront à la production de protéines fonctionnelles. La plupart des protéines à fonction directe sont des aquaporines et des enzymes catalysant la biosynthèse d'osmolytes (carbohydrates et acides aminés).

5. Matériel et Méthodes

Notre travail s'est déroulé au Laboratoire de Toxicologie Cellulaire de l'Université de Annaba.

***Matériel expérimental**

Le matériel expérimental utilisé dans notre travail est un végétal comestible le blé *Triticum durum* dont la variété est la G TA dur.

- Origine

La variété de blé dur G TA dur a été produite au CIMMY (Mexique) et obtenue par l' I TGC (ferme de démonstration et de production de semences de Guelma). Elle est du pedigree gaviots / durum. La variété de GTA dur (R₂) provient de l'Office Interprofessionnelle des Céréales (OAIC) et avec précision de la CCLS (Coopérative de Céréales et de Légumes Secs).

- **Condition techniques**

- Date de semis : fin de novembre –début Janvier.

- Date de semis (Kg/ha) :130-150.

- Fertilisation (11/ha).

- Azotée : 90à 100.

- Phosphatée : 90.

- Potassique : 46.

- **Productivité**

Rendement en grain optimal : 50q x /ha.

2.2 Matériel chimique

Le produit chimique utilisé est un engrais azoté ; le NPK, la molécule provient de l'Unité Fertil d'Annaba.

Tableau 8. Caractéristiques physique et chimique de NPK

FORME	GRANULEE
Forme chimique	NP ₂ O ₅ K ₂ O
Nom commercial	NPK
Couleur	Blanc grisâtre
Conditionnement	Sacs polypropylènes de 50 Kg

Condition de culture des graines

Les graines du blé sont cultivées selon la méthode décrite par Kaur et Duffus (1989). Dix graines sont d'abord choisies de façon aléatoire, elles sont traitées à l'hypochlorite de sodium

(10%) puis sont lavées abondamment à l'eau distillée, elles sont ensuite placées dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre disposées sur du papier buvard, imbibé avec 8ml d'eau distillée.

Traitement des graines

Le traitement des graines est réalisé à partir de solutions préparées à base de NPK sur une période de 14 jours. Les régimes choisis sont : [(0,5 : 0,1 : 0,1) ; (0,5 : 0,2 : 0,1) ; (0,5 : 0,3 : 0,1) et (0,5 : 0,4 : 0,1)].

Mesure des paramètres germinatifs

Taux moyen de germination

Il est exprimé par le pourcentage des graines germées par rapport au nombre total des graines par boîtes de Pétri. Rappelons que la germination des grains est considérée positive quand les racines atteignent 5mm de longueur (Kaur et Duffus ; 1989).

Vitesse de germination

La vitesse de germination est déterminée par la formule suivante :

$$VG : (ngg\ 1^{er}\ jour)/1 + (ngg\ 2^{ème}\ jour) /2 + .. + (ngg\ n^{ème}\ jour)/n . (Haddad, 2001) .$$

VG : vitesse de germination.

Ngg : nombre de graines germées.

Nombre moyen de racines

Chaque graine qui a germé est retirée de la boîte de Pétri puis le nombre de racines est déterminé. Le nombre moyen de racines est établi pour chaque graine, pour chaque condition de traitement et pour le temps de germination.

Longueur moyenne des racines

Les graines sont délicatement retirées des boîtes de Pétri puis à l'aide d'un crayon on marque les extrémités de chaque racine pour mesurer ensuite sa longueur.

Mesure des paramètres biochimiques

Détermination de la teneur moyenne en eau

Les teneurs moyennes en eau des racines et des tiges sont déterminées par le calcul de poids frais (PF) de chaque échantillon avant de mettre à sécher dans l'étuve à 40°C. Le poids sec est ensuite déterminé (PS) et la teneur en eau est calculée par la formule de Monneveux et Nemmar, 1986.

$$\text{Taux (g)} = \frac{(PF - PS)}{PF} \times 100$$

Détermination de la teneur moyenne en protéines

Les protéines totales sont dosées selon la méthode de Bradford (1976). Cette méthode utilise la BSA (Sérum Albumine Bovine) comme standard. Après séchage des échantillons puis broyage et dilution des fragments dans l'eau distillée; le réactif de Bradford est ajouté et le complexe formé est de couleur bleue ; il est ensuite dosé au spectrophotomètre (JENWAY 6300) à la longueur d'onde 595nm.

Détermination de la teneur moyenne en chlorophylle

Les teneurs moyennes en chlorophylle a et b sont déterminées par la méthode de Rao et le blanc (1965). L'extraction de la chlorophylle est réalisée par broyage de 1g de matière fraîche de la feuille de chaque échantillon qui est additionnée de carbonate de calcium et d'acétone (20ml à 80%). La solution obtenue est filtrée à l'abri de la lumière pour éviter l'oxydation de la chlorophylle. On procède ensuite aux mesures spectrophotométriques (JENWAY 6300) à deux longueurs d'onde ($\lambda_1 = 645$ et $\lambda_2 = 663\text{nm}$).

Le calcul de la qualité de la chlorophylle est obtenu par la formule suivante :

* Chl a: 12,7 (DO 663) - 2,69 (DO 645).

* Chl b: 22,9 (DO 645) - 4,86 (DO663). (Hiscot et Israelstam, 1978).

*Chl a+b: 8,02 (DO645) +20,20 (DO663). (Brown et White, 1986).

Détermination du taux de sucres solubles

Les sucres solubles totaux sont dosés par la méthode de Schield et Burnett (1966), les sucres sont extraits en milieu sulfurique en présence d'anthrone. On dépose 100 ml d'échantillon dans des tubes à essai, on leur rajoute 3ml d'éthanol à 80% et on les laisse reposer à la température ambiante pendant 48 heures. Le réactif est préparé à base de 0.2g d'anthrone dans 100ml d'acide sulfurique pur et ceci au moins quatre heures avant le début du dosage.

On fait évaporer l'éthanol, on rajoute ensuite de l'eau distillée dans chaque échantillon avant de les chauffer au bain Marie à 70°C pendant 30 minutes. 2ml d'extrait sont ensuite récupérés pour le dosage au quel on ajoute 4 ml du réactif à l'anthrone (à 0°C).

Le dosage est ensuite réalisé au spectrophotomètre (JENWAY 6300) à la longueur d'onde $\lambda = 585 \text{ nm}$.

Dosage de la proline

Le dosage de la proline est réalisé selon la méthode de Monneveux et Nemmar (1986). Le principe de la méthode consiste à prendre 100mg de matière fraîche ; le couper en petit morceaux puis l'introduire dans un tube à essai ; ajoute ensuite 3ml de méthanol à 80% et chauffer le mélange au bain Marie à la température de 85°C pendant 1 heure.

On procède ensuite au refroidissement : on prélève 1 ml de la solution, auquel on ajoute 1ml d'acide acétique et 1ml d'un mélange contenant : (120 ml d'eau distillée ; 300 ml d'acide acétique, 80ml d'acide orthophosphorique); on ajoute enfin 25mg de ninhydrine.

La solution est portée à ébullition pendant 30 min jusqu'à la coloration au rouge ; on refroidit la solution puis on ajoute 5 ml de toluène et on procède à l'agitation du mélange ; deux phases se séparent :

Phase supérieure contenant la proline et une phase inférieure dépourvue de proline. On aspire la phase supérieure et on procède à sa déshydratation grâce à l'introduction du Na_2SO_4 . On dose ensuite les échantillons (JENWAY 6300) à la longueur d'onde de 528 nm.

La courbe d'étalonnage est obtenue grace à un mélange (acide acétique, eau distillée, acide orthophosphorique et ninhydrine); l'équation permettant l'obtention de la courbe d'étalonnage est **$Y=0,027X$**

6. Résultats

Introduction

Dans cette partie, nous avons proposés d'étudier la réponse de notre modèle végétal ; vis-à-vis des différents régimes de NPK et ce a fin de mieux connaitre les éventuelles variations/perturbations physiologiques et/ou métaboliques.

Pour cela, nous avons procédé à la détermination des paramètres physiologiques de la germination tels le pourcentage de germination, la vitesse de la germination, le nombre moyen des racines, la longueur moyenne des tiges et des racines. Une deuxième partie concerne l'étude de l'effet du NPK sur les paramètres métaboliques tels les teneurs moyennes en eau des racines et des tiges, les teneurs moyennes en protéines totales au niveau racines et des tiges, les teneurs moyennes en chlorophylle a et b au niveau feuilles, les teneurs moyennes en sucres totaux et en proline au niveau racines et des tiges.

Effets des différents traitements NPK sur la croissance et les paramètres physiologiques de la germination.

Effets sur les pourcentages de germination

La Figure (2) représente les résultats obtenus concernant les effets du NPK sur le pourcentage de germination des graines de blé.

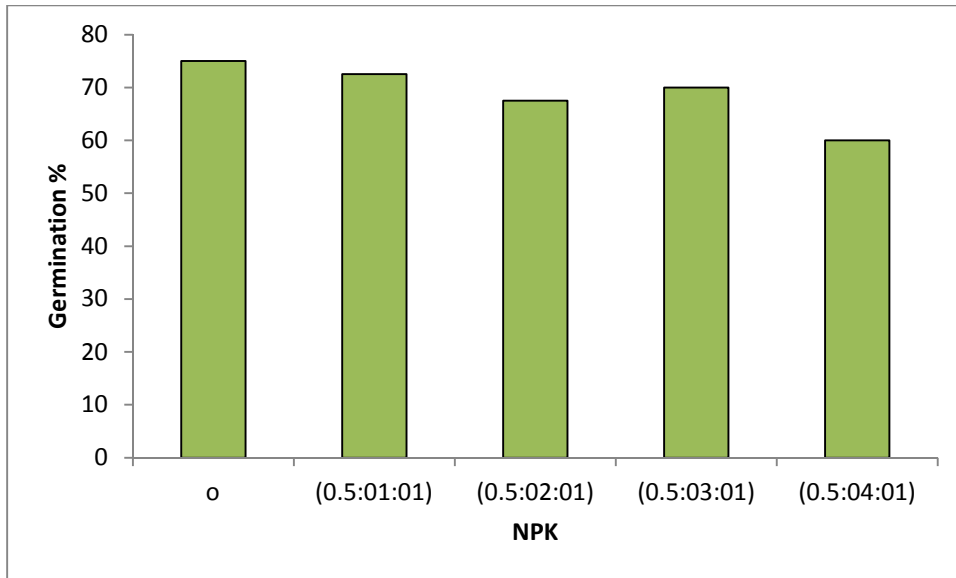


Figure 2 : Effets de différents régimes NPK sur le taux moyen de germination des graines de blé au temps de germination (96h). $P=0.031$.

On constate que le NPK utilisé aux proportions (0,5 : 0,2 : 0,1) est sans effet significatif sur le pourcentage de germination. Cependant ; aux doses (0,5 : 0,4 : 0,1) de NPK, le pourcentage de germination est diminué d'une manière significative ($P=0,031$)

Effets sur la vitesse de germination : les valeurs des vitesses de germination des graines de blé sont représentées dans la Figure (3).

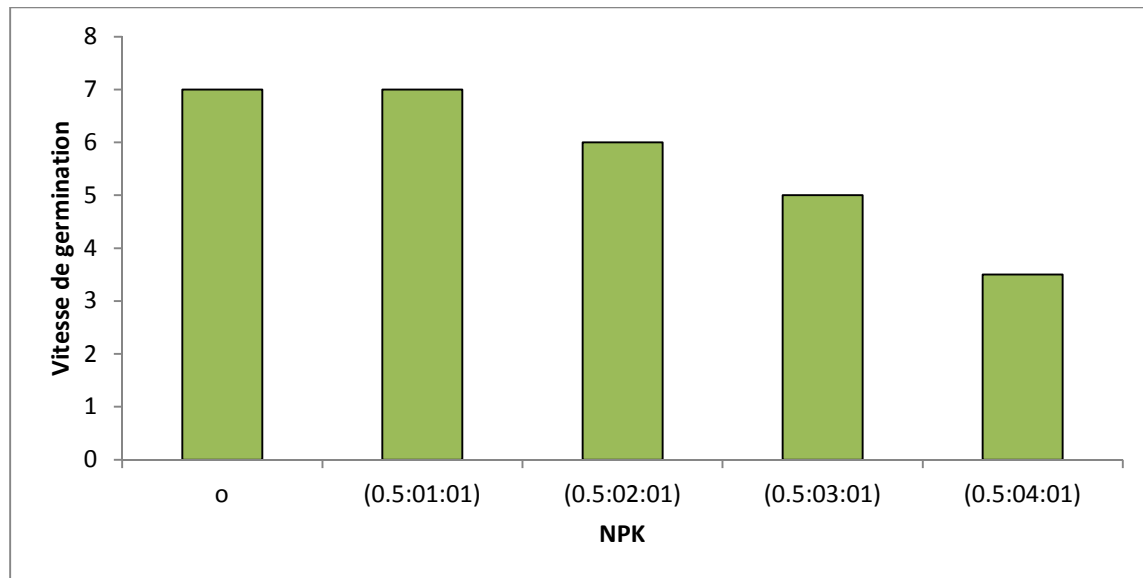


Figure 3: Effets des différents régimes de NPK sur la vitesse de germination des graines de blé au temps de germination (96h).

Nous constatons que les graines témoins et celles soumises au régime (0,5 : 0,1 : 0,1) de NPK présentent des vitesses de germination identiques (VG=7). A la deuxième proportion (0,5 : 0,2 : 0,1), la vitesse de germination diminue près de 25%. A la proportion (0,5 : 0,3 : 0,1) de NPK la vitesse de germination diminue encore pour atteindre 5, et à la proportion (0,5 : 0,4 : 0,1) de NPK une forte baisse de la vitesse de germination est observée, elle est de 50% par rapport aux témoins.

Effets des traitements NPK sur le nombre moyen de racines : l'évolution du nombre moyen de racines des graines de blé, traitées par différents régimes de NPK est représentée dans la Figure (4).

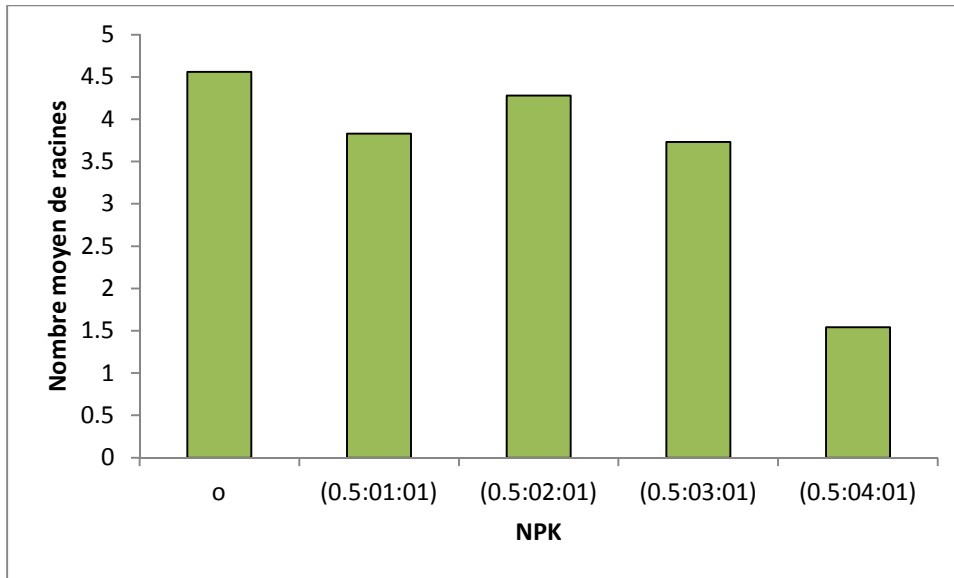


Figure 4: Effets des différents régimes NPK sur le nombre moyen de racines de blé.

La figure (4) représente les résultats obtenus concernant les effets NPK sur le nombre moyen de racines isolées à partir des graines traitées. Nous observons que les graines témoins et celle traitées par le régime (0,5 : 0,2 : 0,1) de NPK présentent une moyenne de 4 racines par graine. Le traitement par la proportion (0,5 : 0,1 : 0,1) de NPK diminue ce nombre d'une manière significative à 3 racines, il en est de même pour les graines traitées par la proportion (0,5 : 0,3 : 0,1) de NPK. Au dernier régime ; à savoir (0,5 : 0,4 : 0,1) de NPK, le nombre moyen de racines est diminué d'une manière très hautement significative dont ($P=0,001$), cette diminution est de l'ordre de 75%.

Effets des traitements NPK sur la longueur moyenne de racines : Les variations des longueurs moyennes des racines des graines de blé par les différents régimes NPK sont représentées dans les Figures (5) et (6).

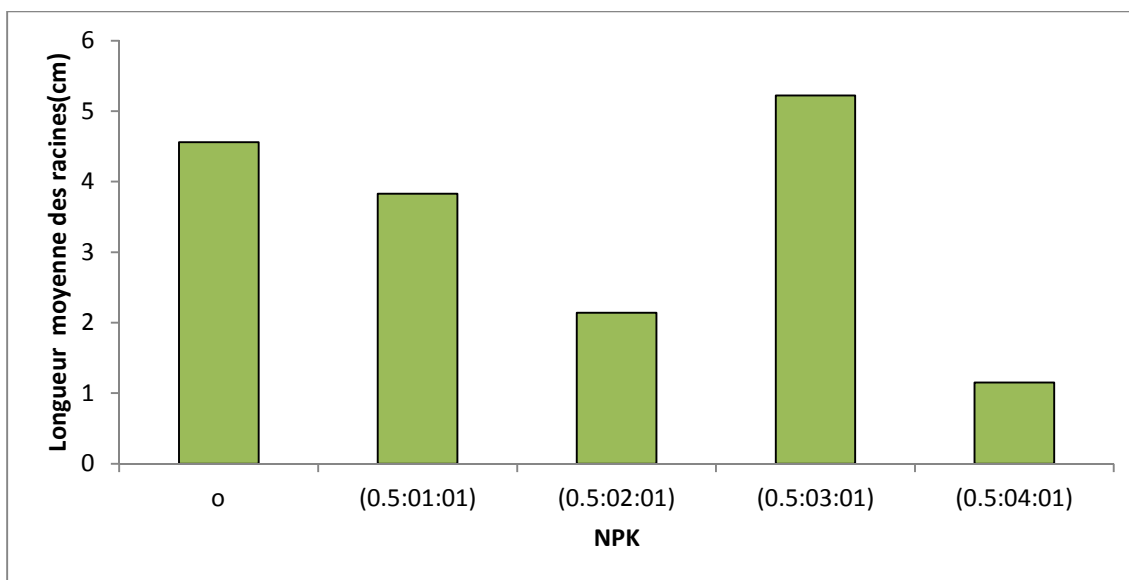


Figure 5: Effets des différents régimes NPK sur la longueur moyenne des racines de blé après 7 jours de traitement.

Les longueurs moyennes des racines des graines de blé témoins présentent une valeur moyenne de 4.56cm. En présence de NPK une réduction significative est observée, elle est de l'ordre de 20%, cette réduction atteint les 40% à la proportion (0,5 : 0,2 : 0,1) de NPK. A la proportion (0,5 : 0,4 : 0,1), la baisse enregistrée est hautement significative dont $P=0.002$; elle est de l'ordre de 80%.

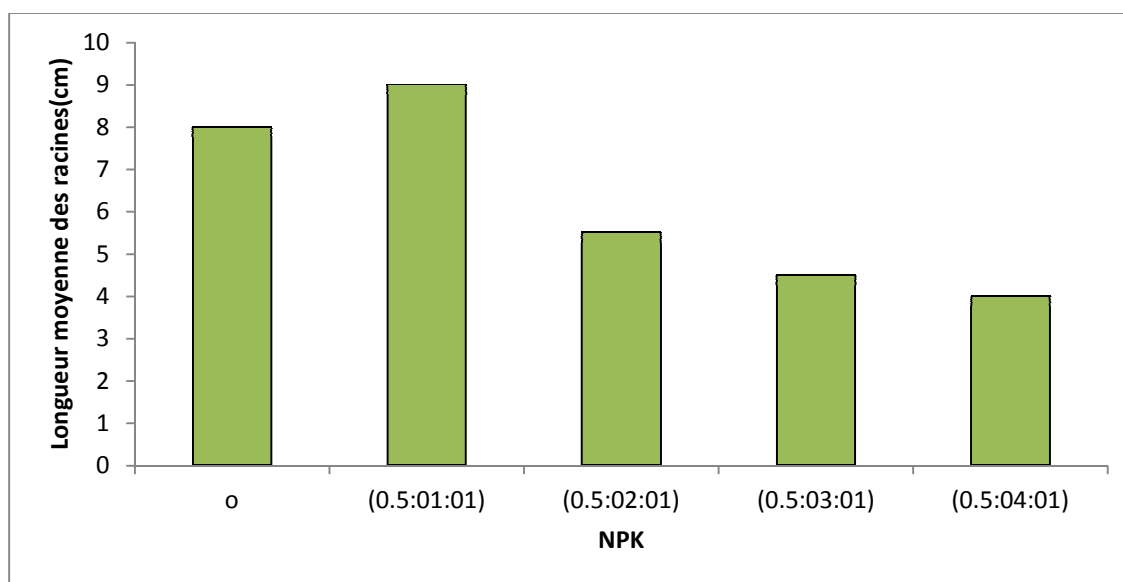


Figure 6: Effets de différents régimes NPK sur la longueur moyenne des racines de blé après 14 jours de traitement.

On constate que les graines témoins ont développé des racines dont la longueur moyenne atteint 8 cm. Ainsi le contact avec le NPK provoque une stimulation de 10% de la longueur moyenne des racines. Une baisse très hautement significative ($P=0,001$), cette diminution est de l'ordre de 50% pour les proportions comprises entre (0,5 :0,2 :0,1) et (0,5 :0,4 :0,1) de NPK par rapport aux valeurs obtenues chez les racines témoins est observées.

Effets des traitements NPK sur la longueur moyenne des tiges

Les effets des traitements par le NPK sur la croissance des plantules issues des graines de blé à travers la détermination des longueurs moyennes des tiges de blé sont représentés dans les Figures (7) et (8).

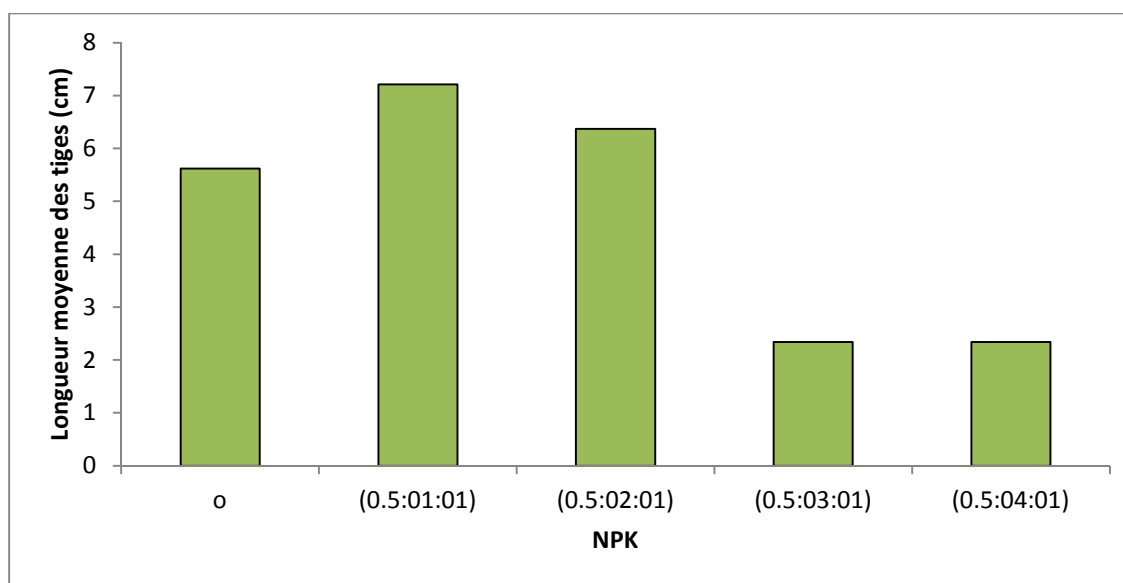


Figure 7: Effets des traitements NPK sur la longueur moyenne des tiges des plantules issues des graines de blé après 7 jours du traitement.

On constate que la longueur moyenne des tiges des plantules issues des graines témoins atteint 5,62 cm. A la proportion (0,5 :0,1 :0,1) de NPK la longueur moyenne des tiges atteint 7.21 cm. Une réduction hautement significative ($P=0,002$) aux proportions (0,5 :0,4:0,1) et (0,5 :0,3 :0,1). Cette réduction est de l'ordre de 50%.

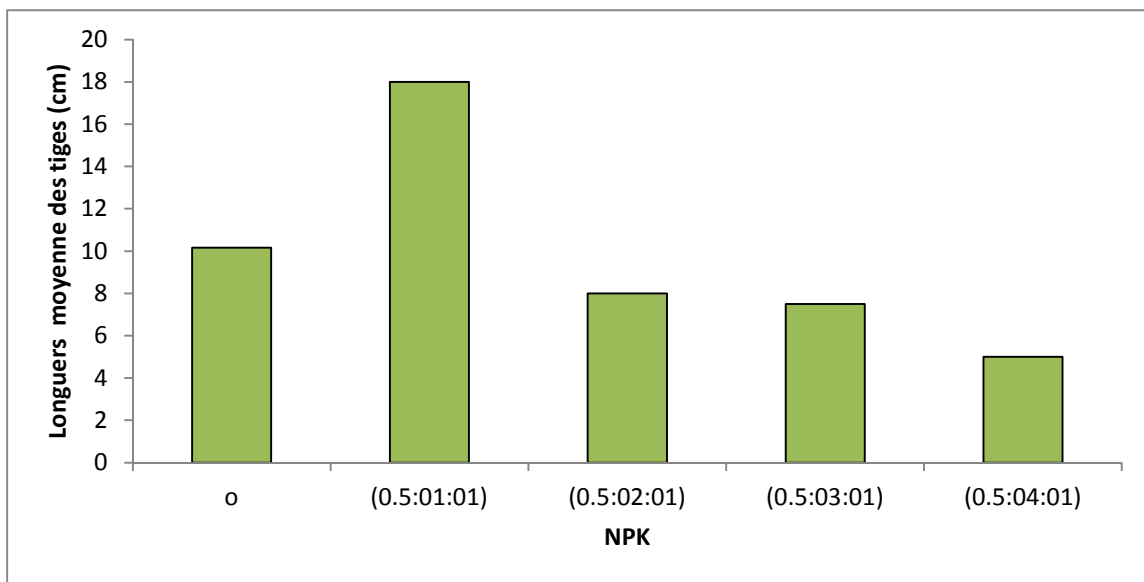


Figure 8: Effets des différents régimes NPK sur la longueur moyenne des tiges des plantules issues des graines de blé après 14 jours de traitement.

D'après cette figure, on constate que les longueurs moyennes des tiges des plantules issues des graines témoins atteignent 10,16 cm et sont par conséquent moins élevées que celles obtenues dans le cas des plantules traitées par (0,5 :0,1 :0,1) de NPK, à la proportion (0,5 :0,2 :0,1) de NPK une réduction près de 20% est observée, elle est suivie d'une baisse de 35% des longueurs des tiges de blé traitées par le régime (0,5 :0,3 :0,1) de NPK et une réduction hautement significative ($P=0.001$) des longueurs moyennes des tiges des plantules est obtenue à la proportion (0,5 :0,4 :0,1) du NPK, celle ci est de l'ordre de 50%.

Effets des traitements NPK sur les paramètres biochimiques de la germination

Effets sur la teneur moyenne en eau des racines.

Les effets du traitement par le NPK sur les teneurs moyennes en eau des racines de blé sont représentés sur les Figures (9) et (10).

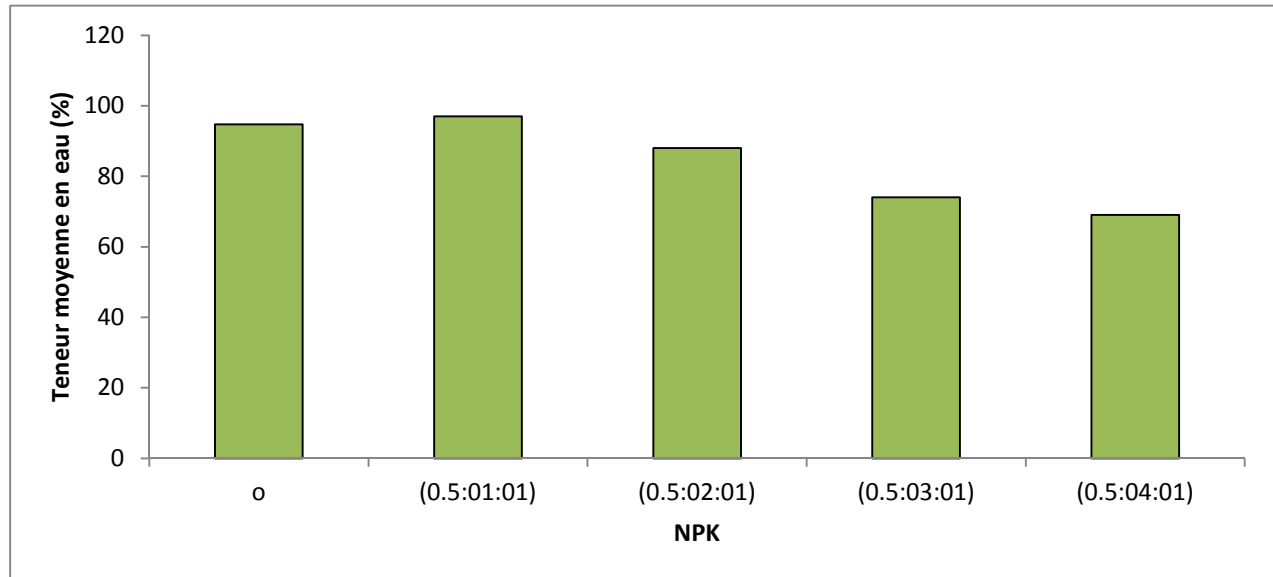


Figure 9. Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en eau des racines des graines de blé après 7 jours de traitement.

On constate que les racines des graines témoins contiennent près de 94.73% d'eau. Le traitement par le régime (0,5 :0,1 :0,1) de NPK tend à faire augmenter cette quantité de 5%. A la proportion de (0,5 :0,3 :0,1) NPK, près de 20% de perte d'eau est enregistrée. A la proportion (0,5: 0,4: 0,1) de NPK la perte d'eau est plus élevée ; cette augmentation hautement significative ($P=0.007$). Cette augmentation est de l'ordre de 30%.

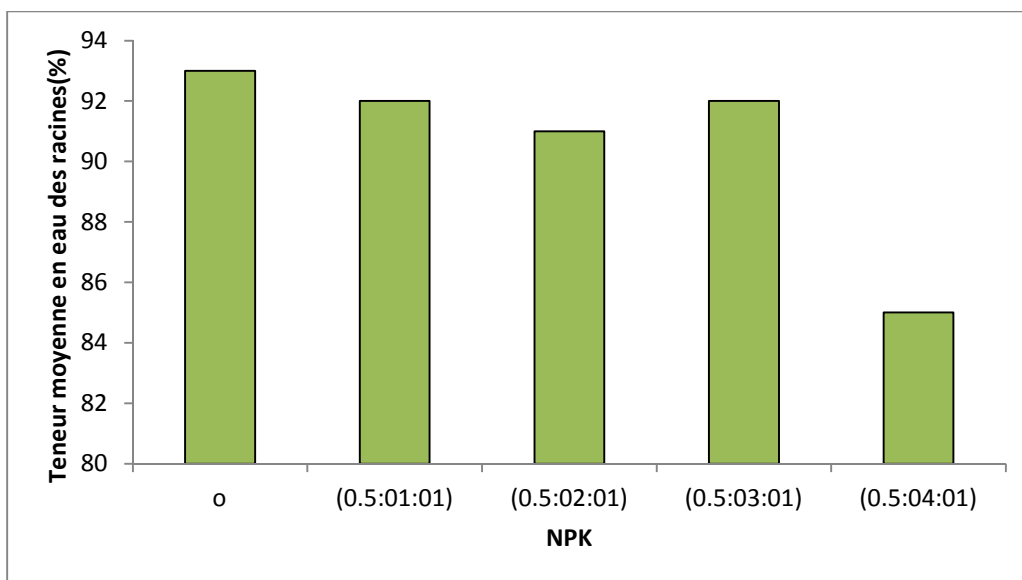


Figure 10. Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en eau des racines des graines de blé après 14 jours du traitement.

On constate que la teneur moyenne en eau des racines témoins est de 93%. Le traitement par le régime (0,5 :0,1 :0,1) de NPK ne semble pas trop modifier cette teneur et à la proportion (0,5 :0,2 :0,1) la baisse enregistrée est faible (5%) mais significative ($P=0,024$), enfin, à la proportion (0,5 :0,4 :0,1) de NPK, la teneur moyenne en eau enregistrée est de 85%. C'est-à-dire une perte significative ($P=0,024$) ; cette diminution est de 10%.

Effets des traitements NPK sur la teneur moyenne en eau des tiges de blé.

Les effets des traitements NPK sur les teneurs moyennes en eau des tiges des plantules sont représentés sur la Figure (11).

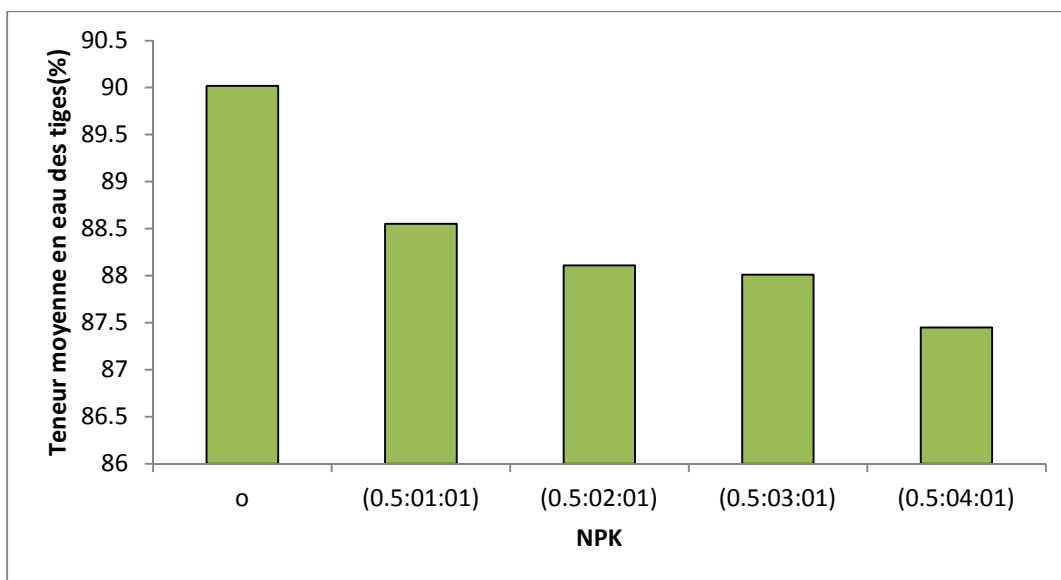


Figure 11. Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en eau des tiges des plantes.

On note que les teneurs en eau enregistrées chez les tiges des plantules témoins atteignent les 90,02%, ce taux est faiblement modifié en présence du régime (0,5 :0,1: 0,1) NPK avec une différence non significative ($P>0,05$). En présence des deuxièmes proportions de fertilisant le taux enregistré est de 88%, il en est de même pour la proportion (0,5 : 0,3: 0,1) NPK et il atteint 87,45% à la proportion (0,5 :0,4: 0,1) NPK. Cette perte d'eau n'est pas significative avec ($P>0,05$).

Effets des différents traitements NPK sur la teneur moyenne en protéines totales.

L'effet du traitement par le NPK sur les teneurs moyennes en protéines totales des racines et des tiges de blé est représenté dans le Tableau 9.

Tableau 9. Teneurs moyennes en protéine totales des racines et des tiges après 7 jours de traitement NPK.

NPK	Teneurs moyenne en protéines totales ($\mu\text{g/g PS}$) ($p < 0.001$)	
	Tiges	Racines
0	15.56 ± 0.0306	10.10 ± 0.0710
(0,5 :0,1:0,1)	20.72 ± 0.0636	10.20 ± 0.1350
(0,5 :0,2:0,1)	9.97 ± 0.0473	11.6 ± 0.0670
(0,5 :0,3:0,1)	5.38 ± 0.0200	15.22 ± 0.3010
(0,5 :0,4:0,1)	5.31 ± 0.9870	18.60 ± 0.4970

On constate que le taux des protéines totales le plus élevé est enregistré chez les tiges traitées par le régime (0,5 :0,1:0,1) NPK, ce taux a tendance à diminuer d'une manière très hautement significative avec $P < 0,001$ à la proportion (0,5 :0,2:0,1) NPK. A la proportion (0,5 :0,4:0,1) NPK, une diminution très hautement significative est observée ($P < 0,001$). Cette diminution est de l'ordre de 30%.

Concernant les racines, nous avons mis en évidence une augmentation très hautement significative ($P < 0,001$) des teneurs moyennes en protéines, cette augmentation atteint les 50% à la proportion (0,5 :0,4:0,1).

Effet des différents traitements NPK sur la teneur moyenne en chlorophylle a et b au niveau des feuilles :

L'effet du traitement NPK sur les teneurs moyennes en chlorophylles a et b au niveau des feuilles des plantules sont représentés dans les Figures (12) et (13).

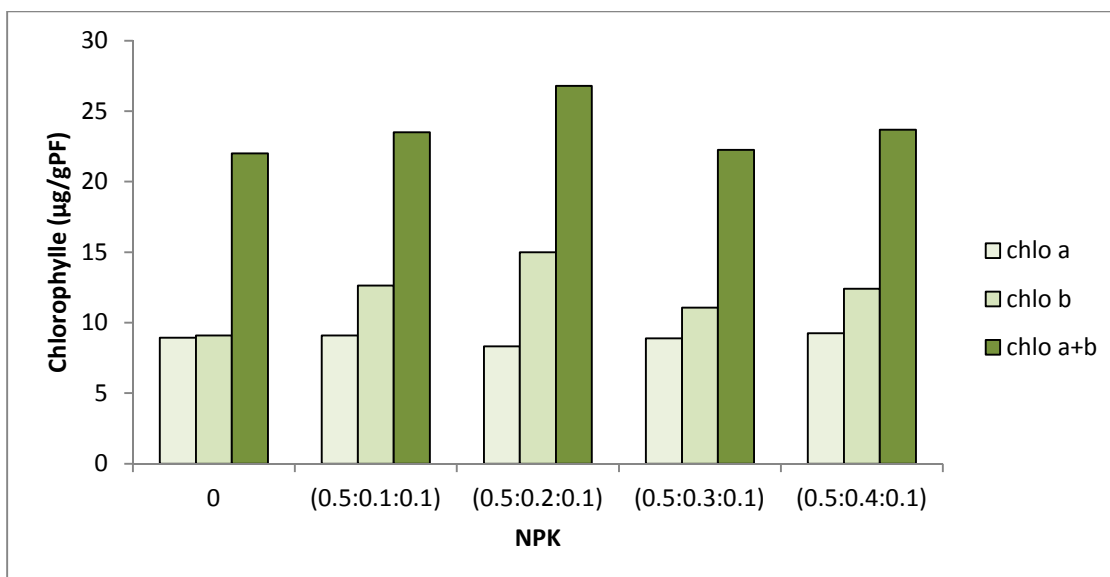


Figure 12: Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en chlorophylle a ; b et (a+b) au niveau des feuilles après 7 jours de traitement.

Nous constatons que les taux moyens de chlorophylle a enregistrés chez les feuilles des plantules témoins et ceux traitées par la proportion (0.5:0.1:0.1) de NPK sont de l'ordre de 9 µg/g PF, ce taux augmente d'une manière dose-dépendante jusqu'à atteindre une valeur de 9.50 µg/g PF par rapport au témoin, concernant les taux moyens de chlorophylle b enregistrés, nous constatons une augmentation significative ($P < 0,05$) ; ce taux varie d'un minimum de 4 µg/g PF chez les feuilles des plantules témoins à 15 µg/g PF chez les feuilles des tiges traitées par (0,5:0,2:0,1) NPK. Aux proportions (0,5: 0,4: 0,1) NPK, une augmentation très hautement significative ($P < 0,001$) par rapport aux témoins, cette augmentation est de l'ordre de 50%.

Concernant les teneurs moyennes en chlorophylle (a+b), nous constatons une augmentation continue et dose-dépendante. En effet, chez les témoins, la teneur est de l'ordre de 23 µg/g PF et chez les traités aux proportions (0,5:0,2:0,1), elle est de l'ordre de 26.79 µg/g PF. Chez les feuilles traitées aux proportions (0,5:0,4:0,1), nous avons mis en évidence une teneur proche à la valeur obtenue chez les plantules témoins.

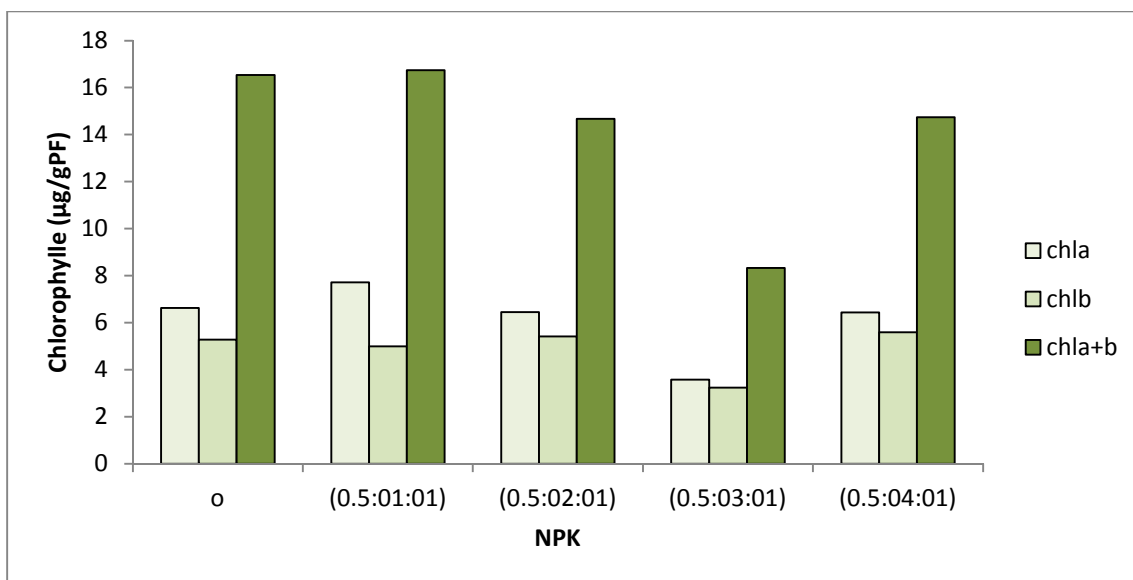


Figure 13: Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en chlorophylle a ; b et (a+b) au niveau des feuilles après 14 jours de traitement.

La Figure (13) représente les résultats obtenus concernant les effets des différentes proportions NPK sur les teneurs moyenne en chlorophylles a, b et (a+b) au niveau des feuilles.

Nous constatons que les taux moyens de chlorophylle a enregistré chez les témoins est de 6,62 µg/g PF, cette valeur diminue d'une manière significative ($P=0,039$) pour atteindre une valeur de 3,5 µg/g PF aux proportions (0,5:0,3:0,1) NPK. Aux proportions (0,5:0,2:0,1) NPK, le taux moyen de chlorophylle a atteint 6,43 µg/g PF, cette valeur est équivalente à celle obtenue chez les plantules traitées par le NPK aux proportions (0,5:0,4:0,1).

Pour la chlorophylle b, les taux enregistrés sont stable chez les feuilles des plantules témoins et celles traitées par les proportions (0,5:0,1:0,1) et (0,5:0,2:0,1). Pour les feuilles traitées par (0,5:0,3:0,1) de NPK, la baisse des teneurs en chlorophylle b enregistrée est environ 50%. A la proportion (0,5:0,4:0,1) de NPK, ces taux atteignent une valeur proche de 6 µg/g PF.

Concernant les teneurs moyennes en chlorophylle totale, nous avons mis en évidence une diminution d'une manière significative ($P=0,025$) et dose-dépendante avec respectivement 16,53 µg/g PF chez les témoins et environ de 14,74 µg/g PF chez les feuilles traités aux proportions (0,5:0,4:0,1).

Effet des différents traitements NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux

L'effet des différents régimes NPK sur les teneurs moyennes en sucres totaux au niveau des racines et des feuilles sont représentées dans les Figures (15), (16), (17) et (18).

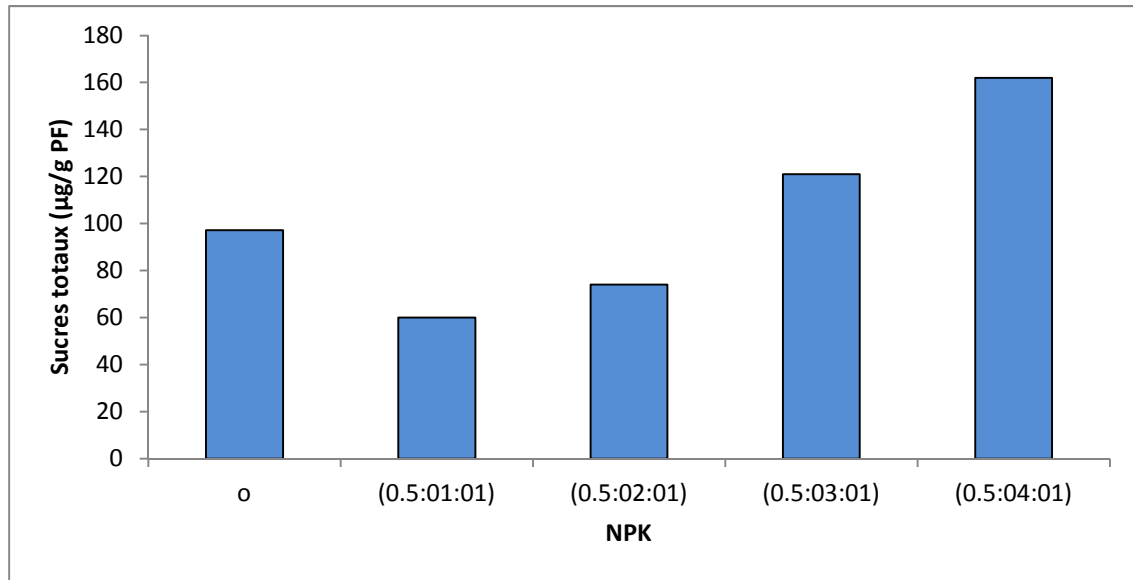


Figure 14. Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux au niveau des racines après 7 jours de traitement.

Nous constatons que les teneurs en sucres totaux enregistrés chez les racines témoins sont de 97.14µg/g PF, le traitement par les régimes NPK (0,5: 0,1: 0,1) et (0,5: 0,2: 0,1) a tendance à diminuer Ces taux de manière hautement significative ($P=0,01$) par rapport aux témoins, chez les racines traitées par (0,5: 0,3: 0,1) et (0,5: 0,4: 0,1) NPK, on note une augmentation hautement significative ($P=0,01$) par rapport aux témoins, cette augmentation est de l'ordre 40% .

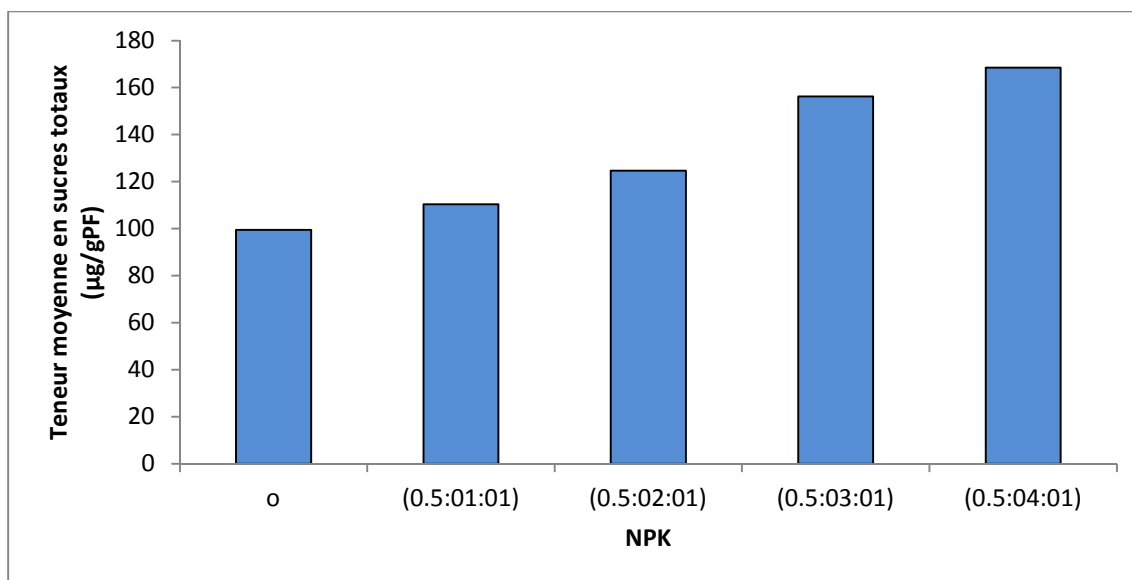


Figure15. Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux au niveau des racines après 14 jours de traitement.

La Figure (15), met en évidence une augmentation dose-dépendante des sucres totaux. En effet, les teneurs en sucres totaux enregistrés chez les racines témoins atteignent une valeur de $99.47\mu\text{g/g PF}$, cependant le traitement par les différents régimes NPK a tendance à augmenter d'une manière hautement significative ($P=0,002$) des taux moyens des sucres totaux par rapport aux témoins. Cette augmentation est de l'ordre de 50% aux proportions (0,5: 0,4: 0,1) NPK.

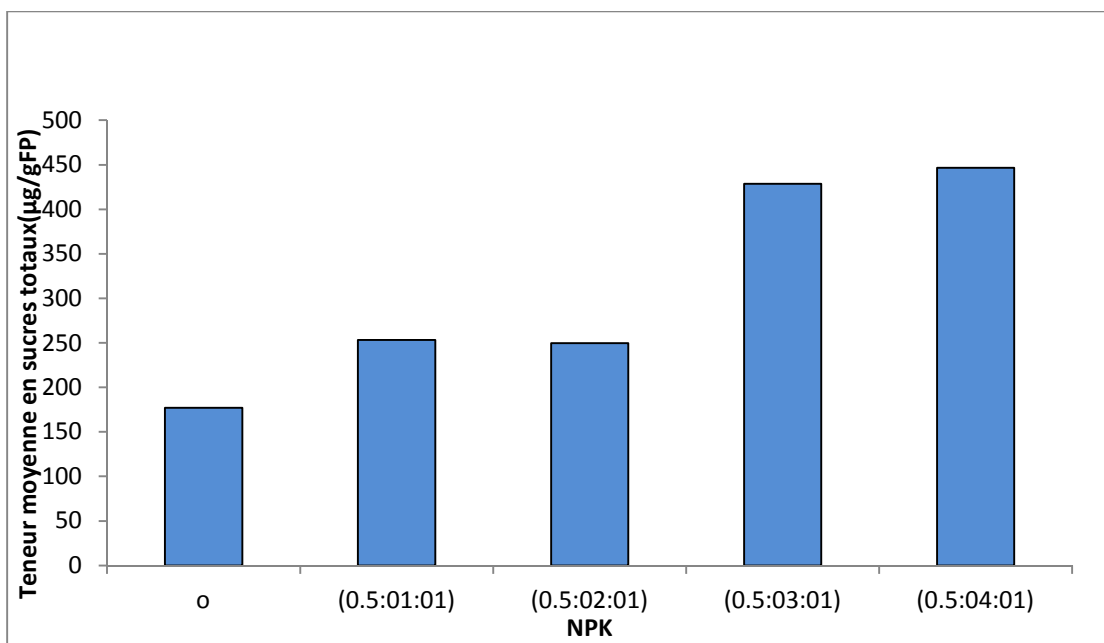


Figure 16. Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux au niveau des tiges après 7jous de traitement.

La Figure (16) illustre, l'évolution des teneurs en sucres totaux enregistrés chez les feuilles des plantules. Nous constatons que le traitement par les différentes proportions NPK augmente le taux des sucres totaux de manière très hautement significative ($P=0,001$) par rapport aux témoins. En effet, chez les feuilles traitées par la proportion (0,5:0,4:0,1) NPK, le taux moyen de sucres est de 450.23 µg/g PF alors que chez les témoins il n'est que 177,1 µg/g PF.

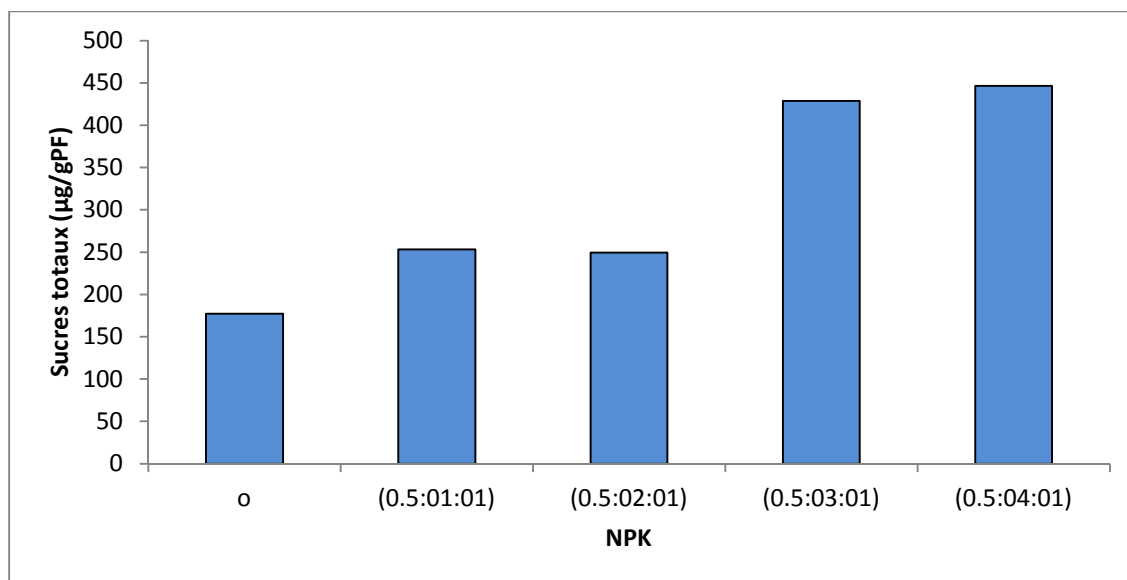


Figure 17. Effet des différents régimes NPK sur la teneur moyenne en sucres totaux au niveau des feuilles après 14 jours de traitement.

La Figure (17), met en évidence une augmentation dose-dépendante des sucres totaux. En effet, les teneurs en sucres totaux enregistrés chez les feuilles témoins atteignent une valeur de 177,1 µg/g PF, cependant le traitement par les différents régimes NPK a tendance à augmenter d'une manière très hautement significative ($P=0,000$) des taux moyens des sucres totaux par rapport aux témoins. Cette augmentation est de l'ordre de 47% aux proportions (0,5:0,4:0,1) NPK.

Effet des différents traitements NPK sur la teneur moyenne en proline:

L'effet des différents régimes NPK sur les teneurs moyennes en proline sont représentés dans les Figures (18) et (19).

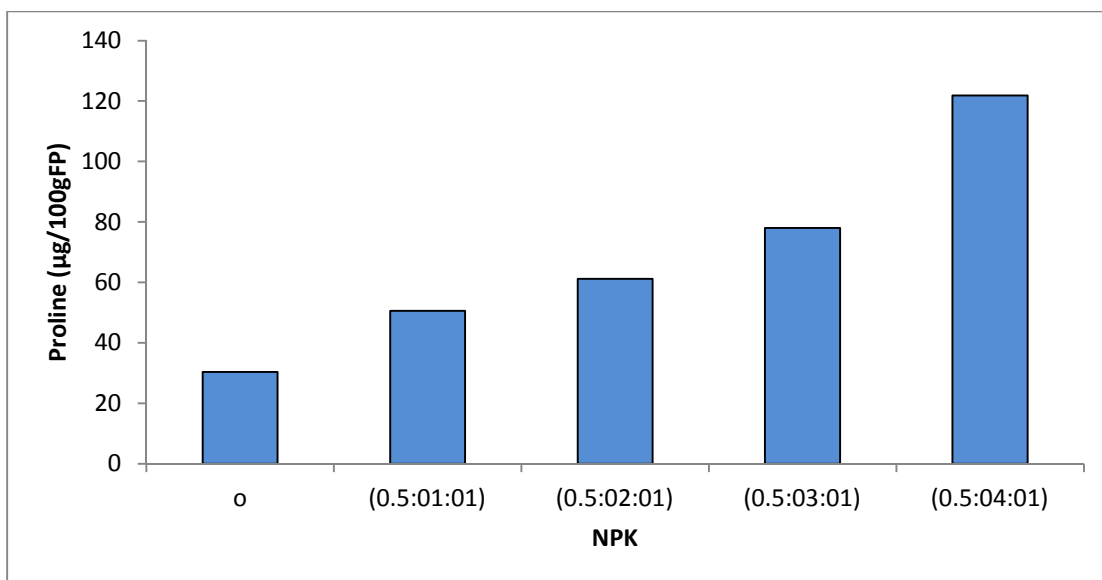


Figure 18. Effet des différents traitements NPK sur le taux moyen de proline au niveau des racines.

Nous constatons que les taux moyens de proline enregistrés chez les racines issues des graines témoins de l'ordre de 30 µg/100g PF, ces taux augmentent de manière dose-dépendante jusqu'à atteindre une valeur proche de 120 µg/100g PF à la proportion (0,5:0,4:0,1) NPK, cette augmentation est très hautement significative ($P=0,000$), elle est de l'ordre de 75% par rapport aux témoins.

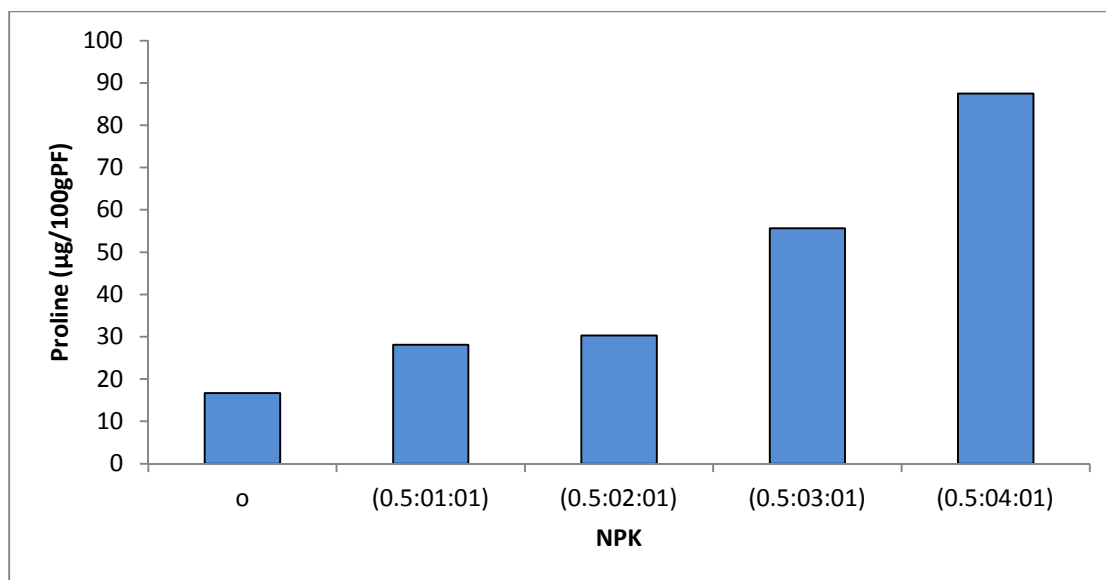


Figure 19. Effet des différents régimes NPK sur le taux moyen de proline au niveau des tiges.

La Figure (19) représente les résultats obtenus concernant les effets des différents traitements NPK sur les teneurs moyennes en proline des feuilles.

Nous constatons que le taux moyen en proline enregistré chez les feuilles des plantules témoins sont proches de 17µg/ 100gPF, ce taux augmente de manière dose-dépendante en fonction des différents régimes NPK jusqu'à atteindre une valeur proche de 88 µg/ 100gPF soit une augmentation très hautement significative dont $P=0,00098$; cette augmentation est de l'ordre de 75% aux proportions (0,5:0,4:0,1) NPK par rapport aux témoins.

3. Discussion

Dans cette partie de notre travail, nous avons étudié la réponse biologique de notre modèle végétal à savoir les grains de blé vis-à-vis un xénobiotique connu pour son influence sur le rendement mais d'un point de vue purement physiologique.

Nous avons déterminé les effets NPK sur le pourcentage de germination ; où nous avons observé ainsi une diminution de ce paramètre particulièrement au régime (0,5:0,4:0,1) (20%). Nos résultats sont en parfait d'accord avec les travaux de Savoie et Smith, (1997) qui ont montré que la germination diminue avec l'augmentation de la concentration en Azote.

Concernant le deuxième paramètre de mesure à savoir la vitesse de germination nous avons enregistré un effet plus marqué aux proportions (0,5:0,4:0,1) de NPK montrant ainsi que les variations des concentrations en ces trois éléments (N, P, K) pouvaient avoir un effet négatif sur la croissance de la plante indiquant ainsi une toxicité.

Concernant les variations du nombre de racines, on constate que les graines de blé sont très sensibles aux différents régimes de NPK. Il en est de même pour les longueurs moyenne des racines et des tiges. Ceci pourrait être expliqué que la présence de phosphore a induit une inhibition de la croissance des tiges comme le montrent les travaux de William et Hopkin, (1999).

La longueur des racines est également affectée par les fortes doses de NPK. De telles réponses ont été confirmées par Kelly et al., (1979) qui ont constaté que l'allongement racinaire est affecté négativement en fonction de concentrations croissantes en Cadmium du sol. De plus, Epron et al. (1999) qui ont travaillé sur le chêne ont montré que les traitements salins modérés et élevés pouvaient altérer fortement l'élongation des racines. Ceci montre que ce paramètre est un très bon indicateur/ biomarqueur de la pollution.

Selon Khurth et al. (1986), la réduction de l'élongation de la racine par la salinité peut être due à l'inhibition de l'extension des cellules suite à la diminution de la turgescence.

Cette perturbation observée chez les graines de blé serait due aux effets des trois éléments combinés (N, P, K) mais en fonction de leurs concentrations sur le déclenchement de diverses

activités enzymatiques à l'origine du démarrage du processus germinatif. Les travaux d'autres auteurs (Clijsters et al. 1999, Van assche et Clijsters ; 1990). Viennent appuyer les résultats dans notre travail.

Chez le pois *Pisum sativum*, la nature des réserves est principalement protidique, pouvant atteindre 40%. Dans un premier temps, il a été démontré chez *Medicago truncatula* (une autre légumineuse) qu'un flux massif d'azote est libéré dans la graine lors de la germination. Les fortes concentrations en azote (sous forme ammonium libre) sont toxiques pour les cellules qui doivent en être débarrassées. L'azote est alors assimilé pour former des acides aminés: c'est la détoxification. (Lafon et al., 1988)

Dans un deuxième temps, il est également proposé qu'un métabolisme d'acides aminés est très actif au cours de la germination. Ils contribueraient non seulement à une synthèse protéique, mais également à fournir des nutriments pour la croissance des nouveaux tissus et à la synthèse de sucres dans la graine. (Lafon et al., 1988).

L'autre aspect de notre travail, concerne les teneurs en eau. Nous avons mis en évidence une diminution de la teneur moyenne en eau des tiges et des racines, L'effet NPK sur le blé n'apparaît qu'au delà la proportion (0,5: 0,3: 0,1) confirmant ainsi les résultats de Bennaceur et al., (2001). La teneur en eau relative dans la feuille est un bon indicateur de l'état hydrique; elle diminue légèrement chez les génotypes stressés. Cela se remarque particulièrement quand le matériel végétal est soumis au régime (0,5:0,4:0,1) de NPK. Ces résultats démontrent que le NPK influence ce paramètre qui diminue. En effet, l'absorption d'eau est maintenue à un niveau suffisant pour éviter la déshydratation des tissus de la plante, pour établir le phénomène de succulence et pouvoir diluer le plus d'osmolytes possibles.

Ainsi, il apparaît selon nos résultats que la partie aérienne est plus affectée que la partie racinaire. Pour s'adapter au manque d'eau et maintenir l'hydratation et la turgescence de ses tissus, la plante va faciliter l'entrée d'eau au niveau des racines. Soit en augmentant la conductivité hydraulique (composition membranaire) ou en effectuant un ajustement osmotique (contrôle des concentrations en solutés). Ces stratégies mises en œuvre pour maintenir

l'homéostasie en condition de stress hydrique ou ionique sont consommatrices d'énergie et de ressources qu'elles détournent au dépend de la croissance (Dubois, 2005).

Selon plusieurs auteurs une baisse de la teneur en eau des organes de la plante est souvent notée lors d'un stress métallique (Barcelo et Poschenrieder, 1990 ; Pandolfini et al., 1992). Celle-ci est à la base d'une diminution de la pression de turgescence et de plasticité pariétale des cellules, responsable d'une activité mitotique faible donc d'une réduction de la croissance (Maroti et Bogнар, 1991).

L'effet du traitement NPK sur les teneurs en eau de notre modèle biologique pourrait s'expliquer par l'effet des éléments pris séparément, ainsi il a été démontré que l'application de Cd, de Pb ou de Ni entraîne une fermeture des stomates (Bazzaz et al., 1975) aboutissant à une diminution de l'activité transpiratoire et une restriction du flux hydrique ascendant (Costa et al., 1994). Cette restriction à l'intérieur des vaisseaux du xylème est due à une réduction du diamètre voire une obstruction de ces vaisseaux suite à un déséquilibre hormonal induit par ces derniers et qui serait à la base de l'inhibition de la croissance cellulaire (Lane et al., 1978).

D'autre part nos résultats ont mis en évidence une augmentation de la teneur moyenne en chlorophylle a, b et par conséquent a+b. ceci est un parfait d'accord avec les travaux de Zhang et al. (1997) qui montrent que la fertilisation azotée stimule la synthèse de la chlorophylle mais non la photosynthèse. Selon Erne et Lannoye (1991), l'altération de l'état physiologique des plantes, causée par des conditions défavorables de l'environnement, se reflète rapidement au niveau des signaux lumineux et thermiques émis par les feuilles.

Les métaux lourds peuvent interférer avec les processus photosynthétiques d'une manière directe via une inhibition des enzymes de synthèse de la chlorophylle (Padmaja et al., 1990 ; Chugh et Sawhney, 1999). La diminution de l'activité photosynthétique, lors d'un stress hydrique, est en relation avec la fermeture des stomates (Tabaeizadeh, 1998). Selon les travaux de (Reichman, 2002), Les teneurs en chlorophylle a, b et totale ont été réduites sous une concentration élevée en Cu. Les travaux de Heckman et al. (1987), montrent que l'absorption

excessive des métaux lourds par le soja, suite à un amendement par les boues résiduelles, inhibe la photosynthèse et la fixation du N₂.

Une diminution de la photosynthèse apparente, induite par la présence de Cd dans le milieu de culture, est observée chez les végétaux supérieurs (Gallego et al., (1996), Moustakas *et al.*, 1997, Chugh et Sawhney, 1999, Singh *et al.*, 2006, Sebartai, 2008). En effet, il a été démontré aussi, que l'action toxique se traduit par la substitution du Mg par les métaux lourds dans les molécules de chlorophylle (Cu, Zn, P, K..), ce qui réduit la photosynthèse. Un effet secondaire de l'inhibition de la photosynthèse par le Cu est une augmentation dans la production de radicaux libres et par conséquent une augmentation dans taux de sénescence des feuilles suite à un stress oxydative (Luna et al., 1994).

Les concentrations toxiques des métaux lourds sont le résultat d'une inhibition des photosystèmes I et II et donc une baisse dans la photosynthèse. Des résultats comparables ont été rapportés par Chugh et Sawhney (1999) pour des plantes de *Pisum sativum* en présence du Cd.

Plusieurs auteurs ont constaté une réduction des chlorophylles sous l'effet d'un stress salin (Almeida viegas et al., 1999) .

La réduction de la chlorophylle sous stress salin peut être attribuée à une augmentation de l'activité de l'enzyme chlorophyllase ou l'interruption de la structure fine de la chloroplaste et l'instabilité du pigment (Djanaguiraman et al., 2006).

Concernant les teneurs moyennes en protéines totales chez les tiges; nous avons mis en évidence une réduction de 33.92 % de ce paramètre à la proportion (0,5:0,4:0,1), en d'autres termes le NPK provoque une forte perturbation de la synthèse des protéines ce qui se traduit par une réduction du contenu protéique comme le stipulent les travaux de Rabe et krieb (1979). au contraire, au niveau des racines traitées ; nous avons mis en évidence une stimulation de la synthèse protéique qui s'expliquerait par le fait que la présence de NPK à l'intérieur des tissus stimule la synthèse de nombreux enzymes entre autre celles intervenant dans la détoxification selon les travaux de Shraddah et al. (2004).

Dans ce travail nous nous sommes également intéressés à la teneur en proline en présence du NPK ; nous avons ainsi mis en évidence une forte augmentation de ce paramètre connu comme étant un biomarqueur de stress. (Panda, 2003; Ben Khaled et al., 2003; Abdul, 2004 ; Leprince et al., 2004). Cette aptitude des plantes à la synthèse et à l'accumulation de la proline n'est pas spécifique seulement aux blés, elle l'est aussi pour de nombreuses glycophytes, chez le pois (Bar-Nun et Poliakov-Mayber, 1979), l'orge *Hordeum vulgare* L. (Buhl et Stewart, 1983), la fève (Belkhouja, 1996) et *Nicotiana tabacum* (Rhodes et Handa, 1989).

Certains auteurs (Zid et Grignon, 1991 ; Singh et al., 2006), pensent que les quantités accumulées pourraient être liées au niveau de tolérance aux stress et cette forte accumulation n'est autre qu'un signe de perturbation conformément à ce que Larher et al. (1993, in Hernandez, 2000) ont montré plutôt qu'une adaptation. Ainsi, l'accumulation de la proline est le résultat de l'inhibition de l'assimilation du CO₂ (Viégas et Gomes Da Silveira, 1999) et l'augmentation du catabolisme des protéines (Viégas et Gomes Da Silveira, 1999 ; Lluch et al., 1995 in Ben khalled et al., 2003) et/ou une synthèse de nouveau de cet acide aminé.

D'autres résultats montrent une liaison entre la capacité d'accumulation de la proline et la minimisation de la baisse de rendement en grain sous stress hydrique (Addad et al., 2005).

Chez le blé, une grande accumulation de proline est corrélée à une diminution en pigments chlorophylliens totaux (a+b) et vice versa, et cette corrélation est négative pour ces deux paramètres. Ces résultats suggèrent l'existence d'une connexion vraisemblable entre les voies de biosynthèse des pigments chlorophylliens et de la proline. Une compétition entre ces deux composés sur leur précurseur commun, le glutamate, peut être à l'origine de cette évolution (Reddy et Veeranjanyulu, 1991, cités par Kavi Kishor et al., 2005).

Les résultats que nous avons obtenus concernant les teneurs moyennes de sucres montrent des taux croissants pour le blé. Cela pourrait être dû à un stress osmotique en réponse au traitement par le NPK. (Stiborova et al., 1988).

De nombreuses études mettent en évidence une accumulation de teneurs élevées en sucres solubles chez différents types de plantes soumises à différents stress : hydrique (Mefti et al., 1998 ; Kameli et Losel, 1995) ; salin (Zid et Grignon, 1991), osmotique (Abdelkrim et al., 2005) et métallique (Bouchelaghem et al., 2011). Cette augmentation est en réalité un paramètre d'adaptation aux conditions de stress (Tahri et al., 1998), permettant de constituer une garantie pour le maintien d'une intégrité cellulaire élevée (Mefti et al., 1998). En effet, les sucres peuvent protéger les membranes et les protéines contre la déshydratation en incitant la formation d'une sorte de verre aux températures physiologiques (David et al., 1998). Le saccharose peut agir en tant que composé soluble compatible et son accumulation peut permettre d'éviter la cristallisation des molécules contenues dans la cellule. Elle limite donc les dommages au niveau des structures cellulaires.

Ce type de tolérance permet à la plante d'assurer normalement ses fonctions physiologiques malgré une dégradation de son état hydrique interne. Hellmann et al. (2000), pensent que cette accumulation de carbohydrates ne pourrait pas être due à une surproduction des assimilats mais reflétant plutôt une réduction de leur translocation du site de synthèse, des feuilles vers le reste de la plante particulièrement le système racinaire dont la croissance est tributaire. Les nombreux cas où sont décelées des accumulations de sucres ou de leurs dérivés alcools (mannitol, sorbitol....) s'accompagnent aussi de l'augmentation d'un des composés aminés (proline ou glycine-bétaïne (Levigneron et al., 1995).

L'accumulation des solutés organiques (sucres, proline) n'est autre qu'un phénomène d'adaptation au stress, permettant à la plante de maintenir sa turgescence par la diminution du potentiel hydrique, c'est une forme d'ajustement de son potentiel osmotique (Monneveux, 1991).

La diminution de la croissance est due probablement à un effet osmotique causant un déficit hydrique et/ou par l'effet des ions qui provoquent des déséquilibres nutritionnels par déficience ou excès ioniques (Benterrouche et Rahmoune, 2005). Elle pourrait être aussi le résultat de la diminution de l'absorption du carbone (diminution de la photosynthèse et la surface foliaire). Ainsi, la diminution de la photosynthèse et au changement de la distribution du

Carbone pour les processus de la croissance (synthèse de la paroi et composés cellulaires) pour maintenir les processus (turnover réparation et transport ionique) ou à l'ajustement osmotique par les solutés organiques sont aussi à l'origine d'une diminution de la croissance (Epron et al., 1999).

On notera toutefois que la diminution de la croissance semble se faire aussi via une diminution de l'élongation cellulaire comme cela a été mis en évidence par Dubois (2005).

Nos résultats sont en accord avec ceux cités précédemment puisque nous avons mis en évidence une diminution plus marquée de la croissance au niveau des parties aériennes qu'au niveau des parties racinaires. Cette différence semble liée à l'implication des racines dans l'assimilation de l'eau, car le maintien d'une certaine activité cellulaire va permettre aux plantes de prospecter le milieu pour la recherche d'eau (Dubois, 2005).

L'effet le plus commun des stress abiotiques sur la physiologie des plantes est ainsi la réduction de la croissance.

CHAPITRE 3:

PARTIE ENZYMATIQUE

Introduction

L'augmentation progressive de la teneur en dioxygène dans l'atmosphère terrestre a permis le développement du métabolisme aérobie. L'apparition de ce métabolisme aérobie est une adaptation à une nouvelle contrainte environnementale. Il possède également un avantage important par rapport aux métabolismes anaérobies puisqu'il permet d'augmenter de façon très significative la quantité d'énergie (ATP) produite. (Asada, 2006)

L'évolution positive de l'efficacité du mécanisme de production énergétique a contribué au développement d'organismes multicellulaires complexes. Toutefois, le dioxygène n'est pas un gaz neutre, et sa réactivité conduit à la formation d'espèces réactives de l'oxygène pouvant réagir avec les composés biologiques et induire certains dommages. Langebartels et al., 2002).

Toutes les cellules d'organismes aérobie contiennent des concentrations importantes de molécules possédant un fort pouvoir réducteur, comme les couples GSH/GSSG (glutathion réduit/glutathion oxydé), NADP/NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide (phosphate) oxydé/réduit), TRX ox/TRX red (thiorédoxine oxydée/réduite) et Fd ox/Fd red (ferrédoxine oxydée/réduite).

Contrairement aux cellules animales, les cellules végétales, et en particulier les cellules chlorophylliennes, contiennent de très grandes quantités d'ascorbate (Déhydroascorbate/Ascorbate).

Tableau 10 : Valeur des potentiels redox et gamme de concentration des principaux couples redox rencontrés dans les cellules végétales (Foyer and Noctor, 2005a).

Couple redox	Potentiel redox (V)	Gamme de concentration cellulaire (μ M)
DHA/ASC	- 0,10	10000-20000
GSSG/GSH	- 0,24	2000-5000
NAD(P)/NAD(P)H	- 0,32	200-500
TRXox/TRXred	- 0,33	10-100

F _d ox/F _d red	- 0,42	10-100
--------------------------------------	--------	--------

Le potentiel redox intracellulaire, ou statut redox, est la résultante de l'état redox des couples oxydo-réducteurs présents dans la cellule.

En pratique, les conditions redox régnant dans la cellule sont évaluées par le rapport des concentrations des formes oxydées et réduites des couples redox prépondérants, comme ceux du glutathion et de l'ascorbate. Du fait de leurs fortes concentrations cellulaires, les deux couples GSSG/GSH et DHA/ASC agissent comme des tampons redox, à l'instar des tampons acidobasiques. Il existe une très forte interconnexion entre les ERO et les molécules réductrices. Par exemple, le GSH et l'ascorbate sont capables de réduire directement l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène. Ils servent également de co-substrats aux enzymes antioxydantes détoxiquant les ERO. Ainsi, de part leur potentiel oxydant et via leurs interactions avec les couples redox majoritaires, les ERO contribuent à l'établissement potentiel redox intracellulaire. (Noctor, 2006).

Il résulte, de ces diverses interactions, une homéostasie redox cellulaire. Le potentiel redox cellulaire détermine les proportions relatives des espèces oxydées ou réduites de chaque couple redox. Ces proportions dépendent des potentiels redox (E°) de ces couples. Cette fonction du potentiel redox cellulaire est particulièrement importante, car l'activité de nombreuses protéines, et en particulier de nombreux facteurs de transcription, est régulée par leur état redox (Foyer and Noctor, 2005b, Noctor, 2006).

Ainsi, dans des conditions normales, le cytoplasme cellulaire est un milieu très réducteur, ce qui a pour conséquence de maintenir la grande majorité des groupements thiols à l'état réduit (Foyer and Noctor, 2005b).

1.2 Les peroxysomes

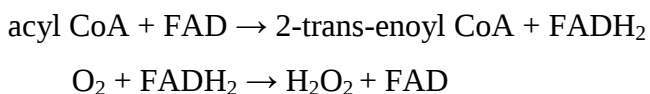
Les peroxysomes possèdent une structure simple, une taille réduite et une très grande quantité de catalases. En raison de ces caractéristiques, les peroxysomes ont longtemps été

considérés comme des organites spécialisés dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène. Les peroxysomes sont en fait le siège d'une forte activité métabolique très centrée sur le métabolisme oxydatif (Corpas et al., 2001; Nyathi and Baker, 2006). Ils possèdent de nombreux systèmes antioxydants et prooxydants. Les deux principales sources d'ERO peroxysomales sont la β -oxydation des acides gras et la photorespiration (Corpas et al., 2001; Nyathi and Baker, 2006).

- La β -oxydation

La β -oxydation est un processus fondamental pour les animaux, les levures mais encore plus pour les plantes. En effet, en dehors de leurs utilisations cataboliques, les composés dérivés de cette β -oxydation sont impliqués dans un très grand nombre de processus cellulaires (Baker et al., 2006; Poirier et al., 2006).

En particulier, cette fonction peroxysomale permet la synthèse de molécules telles que l'acide jasmonique (AJ), l'acide indole acétique (AIA) ou l'acide salicylique (AS). Cependant, une étape de ce processus, l'oxydation de l'acyl CoA par la l'acyl CoA-oxydase, entraîne la réduction du FAD en FADH₂ (Baker et al., 2006). La régénération du cofacteur s'effectue par la réduction d'une molécule d'O₂ entraînant la formation d'H₂O₂ (Foerster et al., 1981).



1.3 Les principales sources enzymatiques

Les plantes possèdent plusieurs enzymes ou complexes enzymatiques responsables d'une production d'ERO plus ponctuelle que celle induite par les grandes fonctions métaboliques. Cependant, ces générations ponctuelles sont à l'origine de « flambées oxydatives » (oxidative burst) pouvant être impliquées dans des processus physiologiques bien spécifiques comme la croissance cellulaire, mais surtout dans la réponse aux stress biotiques et abiotiques. (Foyer and Noctor, 2003)

1.4 Les antioxydants

- **Définition**

Peut être considérée comme antioxydante une molécule qui, étant présente en une faible concentration par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou empêche significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell and Whiteman, 2004).

1.5 Les principaux systèmes non enzymatiques

- *L'ascorbate ou vitamine C*

L'acide L'ascorbique (ASC) est un des principaux acides faibles de la cellule végétale. Aux pH physiologiques, il se dissocie en anion ascorbate. L'ascorbate est essentiellement utilisé au niveau cellulaire comme un donneur d'électrons. Le premier produit de la réaction d'oxydation de l'ascorbate est le radical monodéhydroascorbate (MDHA). Du fait de son électron libre très excentré, le MDHA n'est pas très réactif avec les autres molécules biologiques (Navas et al., 1994).

L'ascorbate est présent dans tous les compartiments cellulaires, ainsi que dans la matrice extracellulaire. Contrairement aux cellules animales, la concentration en ASC est très élevée dans les cellules végétales (plusieurs millimolaires) ce qui en fait un composant incontournable chez les plantes. Il interviendrait notamment dans la régulation du cycle cellulaire et dans l'extension de la paroi (Horemans et al., 2000).

L'ascorbate est toutefois beaucoup plus connu pour ses propriétés antioxydantes (Chen and Gallie, 2004; Foyer and Noctor, 2005a). En effet, il réagit rapidement avec l'anion superoxyde et l'oxygène singulet, ou encore avec le peroxyde d'hydrogène, mais cette dernière

réaction est catalysée par l'ascorbate peroxydase (APX). L'ascorbate est indispensable par sa capacité à réduire d'autres antioxydants oxydés comme la vitamine E ou les caroténoïdes (Asada, 1994).

- Le Glutathion

Le glutathion est un thiol très abondant se retrouvant de façon ubiquitaire chez les plantes, les animaux et les végétaux. Il possède deux formes redox distinctes. La forme réduite (GSH) est un tripeptide (γ -Glu-Cys-Gly), stable, à fort pouvoir réducteur et très soluble dans l'eau. Toutes ces caractéristiques en font un donneur d'électrons adéquat dans les réactions physiologiques. L'oxydation du glutathion entraîne la formation d'un pont disulfure entre les cystéines de deux GSH. Cette forme oxydée du glutathion est appelée GSSG. (Noctor et al., 1998).

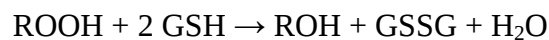
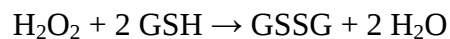
En conditions non stressantes, les cellules maintiennent un ratio GSH/GSSG très important, supérieur à 100 dans le cytosol et la mitochondrie (May et al., 1998) La concentration en GSH est très importante dans les cellules végétales, et en particulier dans les chloroplastes où elle peut atteindre 5 mM (Noctor et al., 1998).

Le glutathion joue de nombreux rôles physiologiques chez les végétaux (May et al., 1998). Il représente une forme importante de stockage de sulfure réduit, et participe à l'allocation en sulfure des différents compartiments cellulaires et des différents organes (Herschbach et Rennenberg, 1991; Lappartient et Touraine, 1996). C'est également un régulateur de l'expression génique (Wingate et al., 1988; Baier and Dietz, 1997) et le précurseur des phytochélatines (PC) jouant un rôle prédominant dans la séquestration des métaux chez les végétaux (Clemens, 2006a; Clemens, 2006b).

Le GSH sert également de substrat pour la glutathion S-transférase (GST) qui catalyse sa conjugaison avec des xénobiotiques, participant ainsi à leur détoxification (Marrs, 1996). Il est

impliqué dans la régulation redox du cycle cellulaire (Gyuris et al., 1993). Du fait de sa forte concentration dans les tissus végétaux et de son fort pouvoir réducteur, le GSH participe au statut redox cellulaire en jouant le rôle de tampon redox dans les cellules (Foyer and Noctor, 2000; Foyer et al., 2001; Foyer and Noctor, 2003).

La synthèse de GSH est stimulée lors des différentes situations de stress et son accumulation est souvent concomitante avec celle des ERO (Potters et al., 2002). Le GSH peut directement réduire l' H_2O_2 mais également d'autres ERO, des hydroperoxydes organiques et des peroxydes lipidiques :



Un autre rôle important du GSH dans la régulation des ERO est son implication dans la régénération de l'ascorbate via le cycle enzymatique dit ascorbate/glutathion ou Asada-Halliwell-Foyer.

1.6 Les principales enzymes antioxydantes

En sus des différentes molécules antioxydantes, les cellules végétales possèdent de nombreuses voies de dégradation enzymatique des ERO. Certaines enzymes n'utilisent pas de co-substrat pour réduire les ERO. Au contraire, d'autres utilisent plusieurs co-substrats dont certains antioxydants que nous venons de voir (GSH).

- Les superoxydes dismutases (SOD)

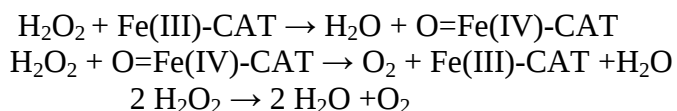
Les superoxyde dismutases (EC 1.15.1.1) sont des métallo-enzymes se retrouvant dans l'ensemble du monde du vivant, mis à part dans quelques microorganismes (Alscher et al., 2002).

Les plantes possèdent trois types de SOD contenant des groupements prosthétiques renfermant des métaux différents : du Fer (FeSOD), du Manganèse (MnSOD) ou du Cuivre et du

Zinc (CuZnSOD). Toutes catalysent la dismutation de deux anions superoxydes en dioxygène et peroxyde d'hydrogène (Bowler et al., 1994; Arora et al., 2002) :

- Les catalases (CAT)

Les catalases (EC 1.11.1.6) sont des enzymes majoritairement peroxysomales catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène. Elles sont formées de quatre chaînes polypeptidiques d'environ 500 acides aminés, comportant chacune un groupe hémique comprenant un atome de Fer. Pour catalyser la réaction, l'atome de Fer réalise une coupure hétérolytique de la liaison O-O du peroxyde d'hydrogène, créant de ce fait une molécule d'eau et un groupement Fe (IV) =O hautement oxydant. Ce dernier peut ensuite oxyder une autre molécule de peroxyde d'hydrogène pour donner du dioxygène et de l'eau :

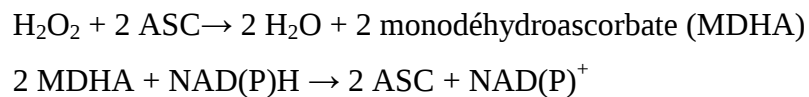


Du fait de sa localisation et de sa faible affinité pour l'H₂O₂ le rôle principal de la CAT est de détoxiquer le peroxyde d'hydrogène produit à proximité par la CTE chloroplastique, et surtout par les processus peroxysomaux de β-oxydation et de photorespiration (Smirnoff, 1998). Bien qu'elle ait été longtemps considérée comme une des enzymes antioxydantes les plus importantes, il semble désormais que son importance dans la détoxification de l'H₂O₂ soit réduite, en dehors de celui issu du métabolisme peroxysomal (Blokhina et al., 2003; Halliwell, 2006; Pitzschke et al., 2006).

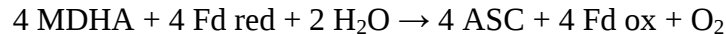
- Les enzymes du cycle Asada-Halliwell-Foyer

Le cycle Asada-Halliwell-Foyer est un cycle composé de quatre enzymes conduisant, par des réactions d'oxydoréduction successives, à la réduction de l'H₂O₂ par l'ascorbate peroxydase (APX) via l'oxydation d'ascorbate, et la régénération du pool d'ascorbate (Asada, 1999)

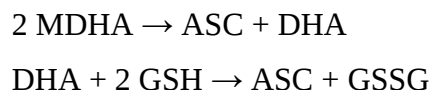
L'APX (EC 1.11.1.11), peroxydase de classe I, est une métallo-enzyme contenant un groupe ferriprotoporphyrine IX. Elle est présente dans tous les compartiments cellulaires, dans le cytosol et dans l'apoplaste, sous forme soluble ou liée aux membranes (Foyer and Noctor, 2000; Mittler, 2002). L'APX catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en utilisant l'ascorbate comme co-substrat. Le MDHA issu de cette réaction peut ensuite être pris en charge par la monodéhydroascorbate réductase (MDHAR ; EC 1.6.5.4) catalysant sa réduction en ASC en utilisant du NAD(P)H :



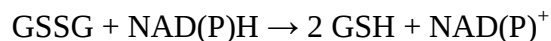
Néanmoins, la situation est un peu plus compliquée, puisque le MDHA est aussi un accepteur d'électrons pouvant être réduit directement par dérivation des électrons de la CTE chloroplastique (Miyake and Asada, 1994). Le MDHA rentre en compétition avec le NADP^+ pour accepter l'électron libéré par la ferrédoxine au niveau du PSI :



Comme nous l'avons vu précédemment, le MDHA est une molécule instable se dismutant en ASC et déhydroascorbate (DHA). La deuxième enzyme intervenant dans la régénération de l'ascorbate, la déhydroascorbate réductase (DHAR ; EC 1.8.5.1), catalyse la réduction du DHA en ASC, via l'oxydation de deux molécules de GSH :



La dernière réaction de ce cycle est la réduction du GSSG par une flavoprotéine, la glutathion réductase (GR ; EC 1.8.1.7), utilisant pour cela du NAD(P)H comme cofacteur :

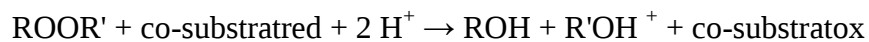


L'ensemble des enzymes de ce cycle se retrouvent sous forme soluble dans le stroma du chloroplaste, dans les mitochondries ou dans le cytosol (Low and Merida, 1996). Ces différentes enzymes, à l'exception d'une MDHAR liée à la membrane plasmique, semblent absentes de

l'apoplaste, zone où, pourtant, la quantité d'ERO produite est importante (Horemans et al., 2000; Potters et al., 2002; Pignocchi and Foyer, 2003).

- Les peroxydases (POX)

Les POX (EC 1.11.1.x) sont une large famille multigénique d'enzymes hémiques catalysant la réduction d'un substrat oxydé en utilisant de nombreux co-substrats comme donneurs d'électrons. Pour la majorité de ces enzymes, le substrat optimal est le peroxyde d'hydrogène, mais elles peuvent facilement réduire des hydroperoxydes organiques ou des peroxydes lipidiques :



Dans certaines conditions, une partie des POX (classe I et III) peut avoir une activité similaire à la catalase (catalase-like), c'est-à-dire qu'elles possèdent la capacité de réduire l' H_2O_2 en absence de co-substrat (Mika et al., 2004).

Au niveau cellulaire, la répartition des POX est très nette. Les POX de classe III se trouvent dans l'apoplaste sous forme soluble ou liées aux parois et membranes. Les POX de classe I, dont l'APX est la représentante majoritaire, sont présentes uniquement à l'intérieur des cellules.

2. Matériel et méthodes

Dans cette partie de notre travail, nous nous sommes intéressés aux variations de certaines enzymes de détoxification tels : l'APX, la CAT, la GST ainsi que à l'évaluation de facteur impliqué dans le processus de détoxification comme le GSH. D'un autre coté, nous avons jugé intéressant de suivre l'évolution du taux de MDA, principal biomarqueur de la peroxydation lipidique.

2.1 Dosages Enzymatiques

- **Préparation de l'extrait enzymatique :**

La méthode utilisée afin d'obtenir l'extrait enzymatique des racines et des tiges traités avec NPK est celle de Loggini (1999). L'extrait sera utilisé pour la mesure de l'activité ascorbate-peroxydase (APX), et le Glutathion transférase (GST). Après chaque période de traitement, les racines et les tiges fraîches (1g) sont broyées à froid à l'aide d'un mortier dans 5ml de tampon phosphate (50mM phosphate, pH=7,5). L'homogénat est ensuite filtré à l'aide d'une toile adéquate avant de procéder à une centrifugation à froid de 12000g pendant 20min (centrifugeuse

Sigma 3-16K). Le surnageant obtenu sera utilisé comme extrait pour la détermination des différentes activités enzymatiques.

- **Mesure de l'activité Ascorbate-peroxydases (APX)**

Le suivi spectrophotométrique de l'activité ascorbate-peroxydase est réalisé 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 GeneSys 8) pendant 1min et ce pour un coefficient d'extinction linéique molaire $\varepsilon = 2800M^{-1}.cm^{-1}$. L'activité APX est exprimée en nmol/min/mg de protéines.

- **Quantification des mesures spectrophotométrique :**

La formule suivante est utilisée dans la quantification des différentes mesures spectrophotométriques suite aux dosages enzymatiques de l'APX et CAT (Servais, 2004).

$$\text{Act.} = \frac{\Delta A \cdot V_t}{\varepsilon \cdot \Delta t \cdot L \cdot V_e \cdot p}$$

Act: Activité enzymatique en nmole/min/mg de Protéines.

ε : Coefficient d'extinction linéique molaire en M.

ΔA : Différence moyenne de l'absorbance

V_t : Volume total du mélange réactionnel en ml.

V_e : Volume de l'extrait enzymatique en ml

L: Largeur de la cuve de mesure en cm

P: Teneur en protéine en mg.

T: temps de lecture en min

- Dosage de l'activité Catalase (CAT)

Le suivi spectrophotométrique de l'activité catalase (CAT) est réalisé suivant la méthode de Cakmak et Horst, (1991). La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant trois minutes (spectrophotomètre JENWAY 6300) pour une longueur d'onde de 240 nm et un coefficient d'extinction linéique molaire $\varepsilon = 39400 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{L}$. Pour un volume final de 3ml, le mélange réactionnel contient : 100 μl de l'extrait enzymatique brut, 50 μl de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 à 0,3% et 2850 μl 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.

- Dosage de l'activité Glutathion S-Transférase (GST)

Le suivi de l'activité glutathion S-transférase est réalisé par la méthode de Habig *et al.*, (1974) les échantillons sont homogénéisés dans un tampon phosphate à pH 6,5 et à 100 mM et centrifugés à 9000g pendant 30 min. La méthode consiste à faire réagir les GSTs sur un mélange CDNB (20mM)-GSH (100mM) la variation de la densité optique due à l'apparition du complexe CDNB-GSH est mesurée toutes les 15 secondes pendant 2 minutes à 340 nm. Les concentrations de la GST sont exprimées en nmole /min/ mg de protéines.

2.2 Dosage non enzymatique

- Dosage du taux de Glutathion (GSH) :

L'extrait enzymatique est homogénéisé dans une solution d'E.D.T.A à 0,02M et subit une déprotéinisation par l'acide sulfo-salicylique 0,25%. Après centrifugation à 2000 g pendant 10 minutes le surnageant est utilisé pour le dosage spectrophotométrique avec le réactif DTNB à 0,01M à 412nm.

Les concentrations du GSH sont dosées par la méthode de Weckbecker et Cory, (1988) et exprimées en μM / mg de protéines.

- Dosage du taux de La Malondialdehyde (MDA)

L'extraction de MDA se fait dans 10ml de l'acide trichloracétique (TCA), et suivie d'une centrifugation 12000g pendant 15mn, au surnageant est ajouté un volume égal d'acide thiobarbiturique (TBA) 0.5% dans TCA 20% ; le à 100°C pendant 25mn. L'absorbance de surnageant obtenu après centrifugation à 10000g pendant 5mn est lue à 532 nm. Alia et al. (1995).

2.3 Etudes statistiques

Les données obtenues pour chaque paramètre, ont été interprétées statistiquement au moyen de l'analyse de la variance (Dagnelie, 1999), ont utilisant le logiciel « Minitab 13.31, 2000 ».

3. Résultats

Effet de différents traitements NPK sur l'activité Ascorbate Peroxydase (APX) :

La Figure (20) montre que le traitement NPK provoque une augmentation dose-dépendante et très hautement significative ($P=0,000$) de l'activité APX. En effet, une augmentation de 50% est observée à partir du traitement (0,5 :0,2 :0,1) NPK, par rapport aux témoins, à la proportion (0,5 :0,4 :0,1), on obtient une valeur de l'activité enzymatique proche à celle obtenue chez les racines traités par (0,5 :0,3 :0,1) de NPK.

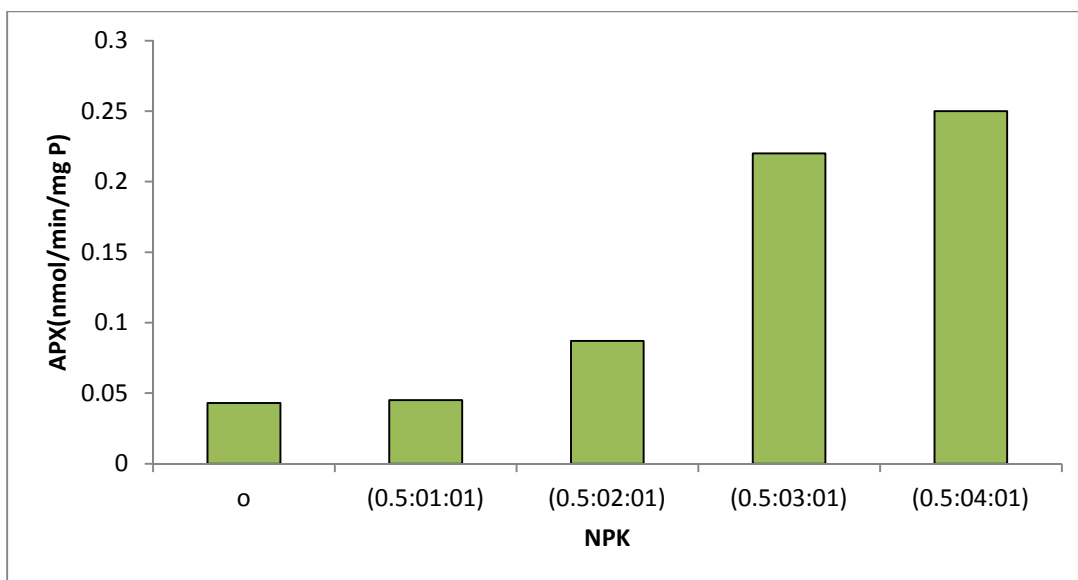


Figure20. Variation de l'activité APX au niveau des racines chez les graines traitées par différentes régimes NPK à près 7jours.

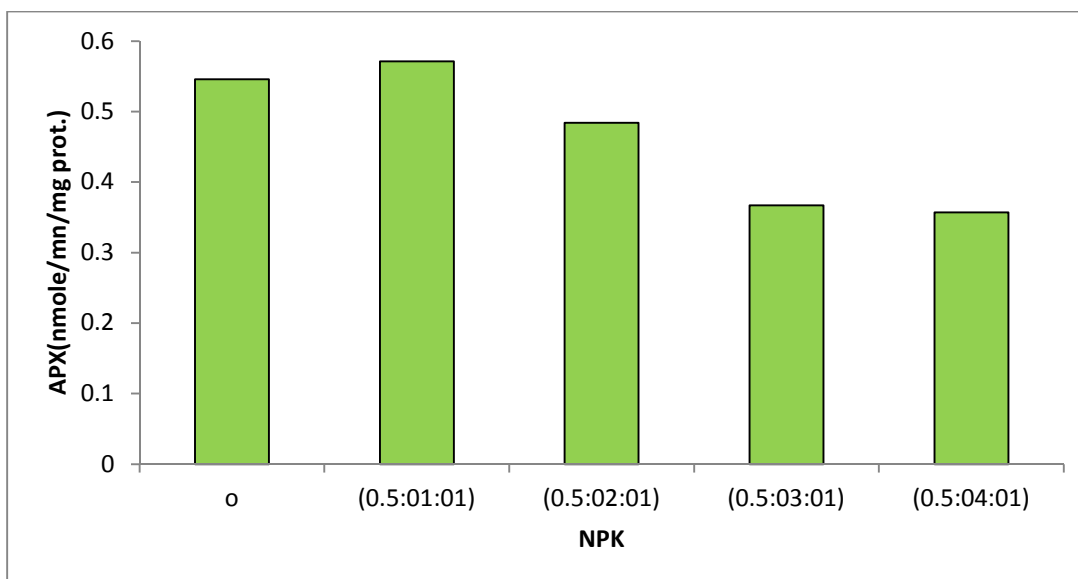


Figure21. Variation de l'activité APX chez les racines traitées par différents régimes NPK à près 14jours.

La figure (21) illustre les variations de l'activité APX en présence de concentrations croissantes de NPK, nous constatons une diminution non significative

($P=0,321$) de l'activité APX à partir de la concentration (0,5 :0,2 :0,1) NPK et ce jusqu'à la plus forte concentration NPK (0,5 :0,4 :0,1) ou la diminution est de l'ordre de 20%.

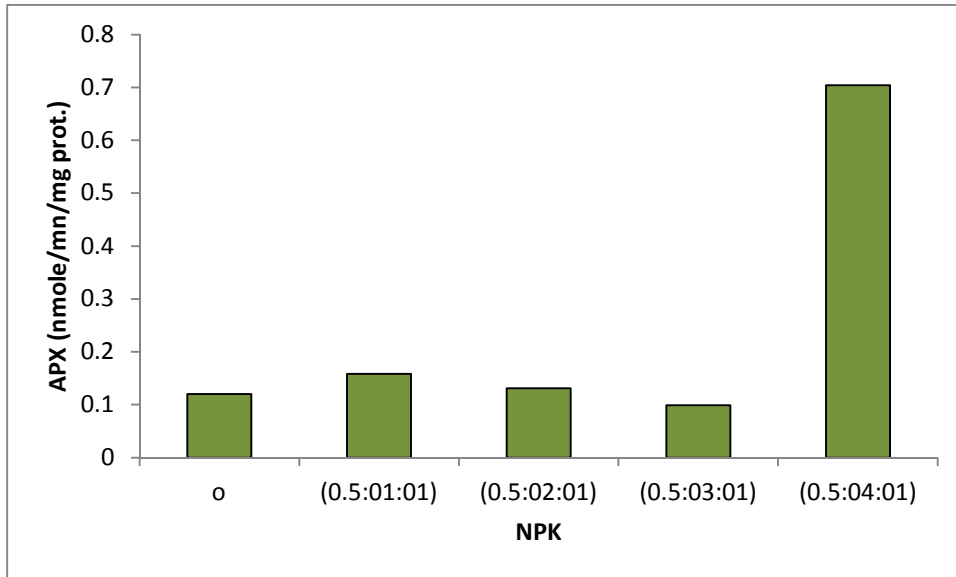


Figure22. Variation de l'activité APX au niveau des tiges chez les graines soumises à différentes régimes NPK après 7jours.

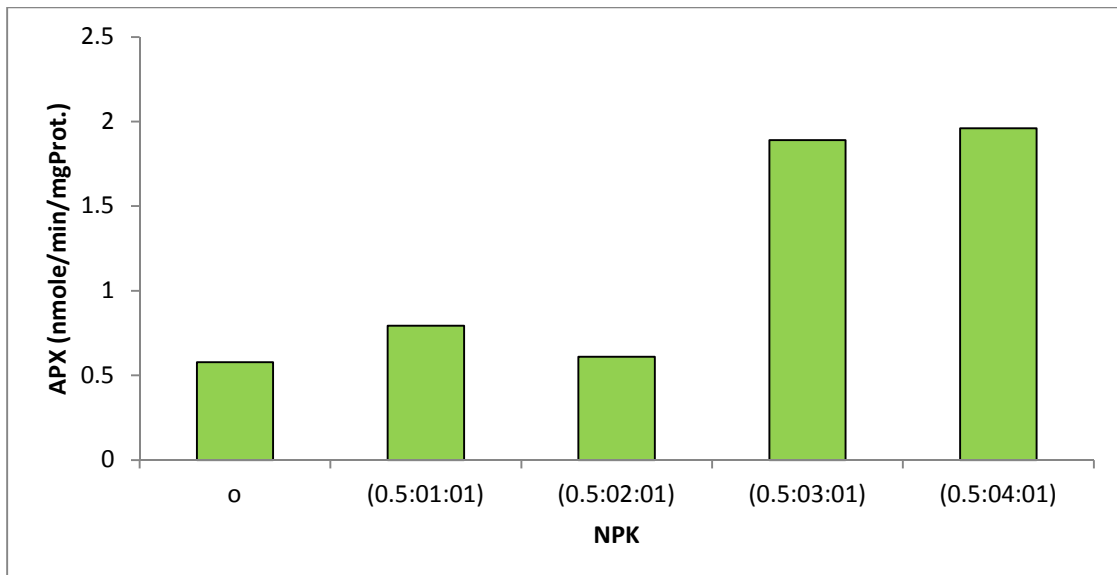


Figure 23. Variation de l'activité APX au niveau des tiges chez les graines traitées par différentes proportions NPK après 14jours de traitement.

Les Figure (22), (23) mettent en évidence une forte activité APX (environ 6 fois plus que le témoin) à la plus forte concentration après sept jours de traitement de grains de blé. Après 14 jours de traitement, nous avons mis en évidence une augmentation très hautement significative de l'activité APX ($P=0,000$), cette augmentation est de l'ordre de 75% au proportion (0,5 :0,4 :0,1) NPK.

Effet des différents traitements NPK sur l'activité catalase (CAT)

Les Figures (24), (25), (26) et(27) mettent en évidence l'évolution de l'activité CAT en fonction des différentes concentrations NPK au niveau des racines, des tiges après 7 et 14 jours de traitement.

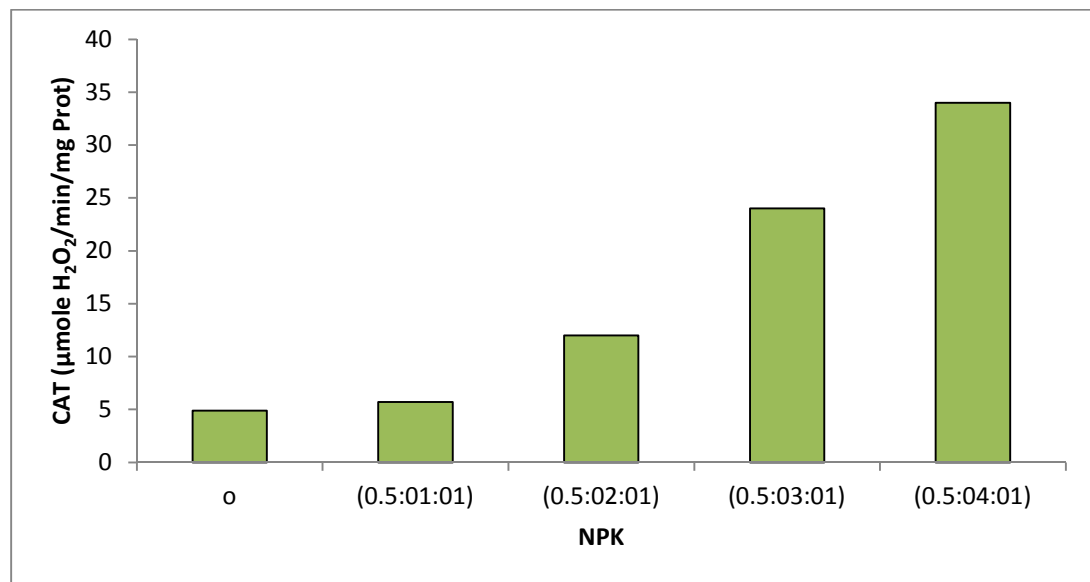


Figure 24. Effets des différents régimes NPK sur l'activité CAT au niveau des racines après 7 jours de traitement.

Nous constatons une augmentation dose-dépendante par rapport aux témoins ; cette augmentation est très hautement significative ($P=0,000$) ; cette augmentation est de l'ordre de 80% à la proportion (0,5 :0,4 :0,1) NPK par rapport aux témoins.

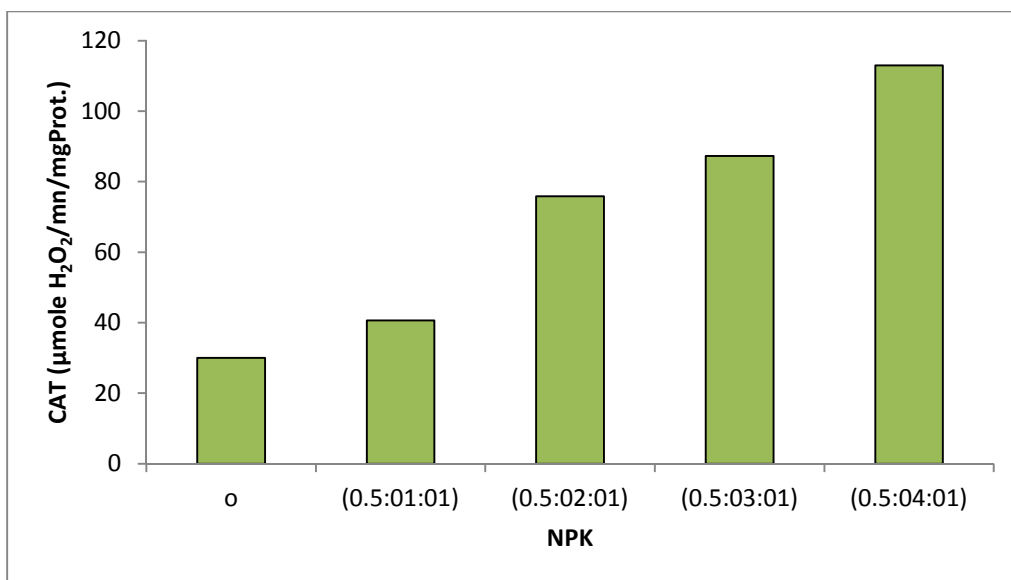


Figure 25. Effets des différents régimes NPK sur l'activité CAT au niveau des racines après 14 jours de traitement.

Nous constatons une augmentation dose-dépendante par rapport aux témoins ; cette augmentation est très hautement significative ($P=0,000$) ; cette augmentation est de l'ordre de 85% à la proportion (0,5 :0,4 :0,1) NPK par rapport aux témoins.

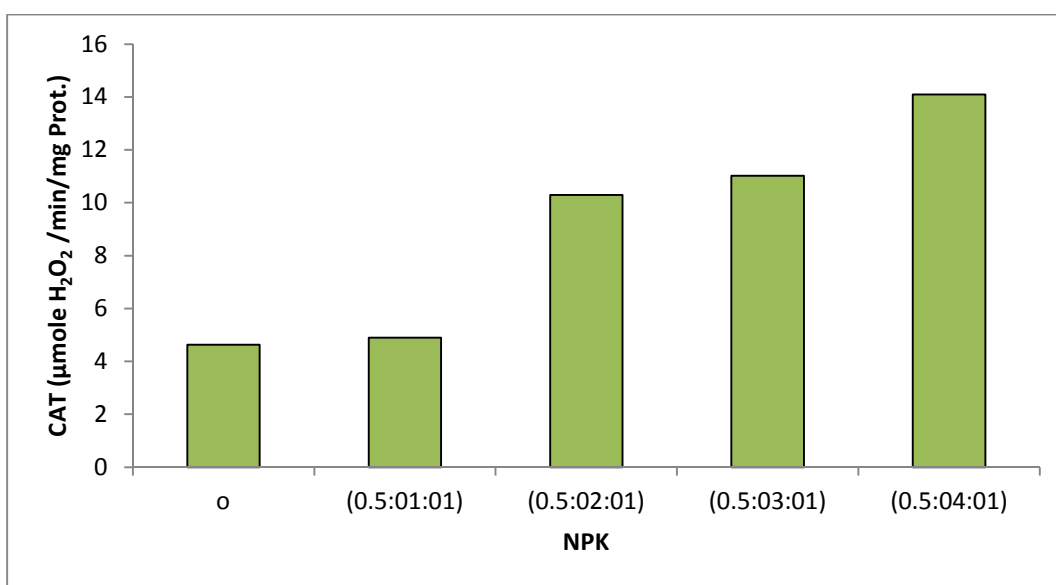


Figure 26. Effets des différents régimes NPK sur l'activité CAT au niveau des tiges après 7 jours de traitement.

Au niveau des tiges et toujours après 7 jours de traitement nous constatons également une augmentation très hautement significative ($P=0,000$) et dose-dépendante de l'activité CAT chez les traités par rapport aux témoins. Cette augmentation est de l'ordre 75% pour la plus concentration par rapport aux témoins.

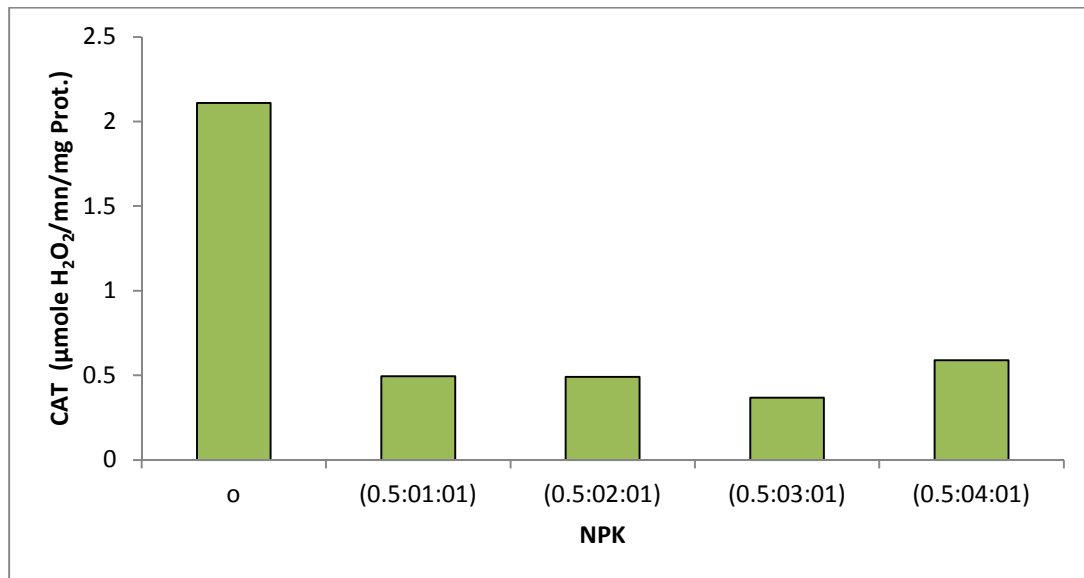


Figure 27. Effets des différents régimes NPK sur l'activité CAT au niveau des tiges après 14 jours de traitement.

La Figure (27) illustre les variations de l'activité CAT en présence de concentrations croissantes de NPK, nous constatons une diminution très hautement significative ($P=0,000$) de l'activité CAT à partir de la concentration (0,5 :0,2 :0,1) NPK et ce jusqu'à la plus forte concentration NPK (0,5 :0,4 :0,1) ou la diminution est de l'ordre de 75%.

- Effet des différents traitements NPK sur l'activité GST

Les données concernant l'évolution de l'activité GST exprimées en nmoles/min/mg de protéines mesurées au niveau des racines et des tiges sont regroupées dans les Figures (28), (29), (30) et (31).

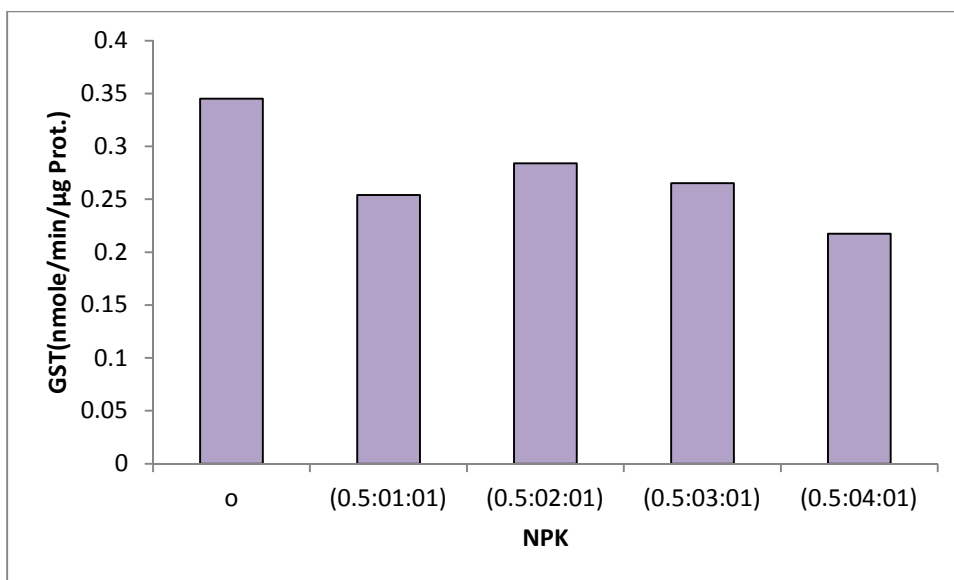


Figure 28. Effets des différents régimes NPK sur l'activité GST au niveau racines après 7 jours de traitement.

La Figure (28), met en évidence une diminution significative ($P=0,034$) et dose-dépendante de l'activité GST par rapport aux témoins. Ainsi pour la plus forte concentration (0,5 :0,4 :0,1) NPK l'activité GST est de l'ordre de 0,21 nmole/min/μg Prot.

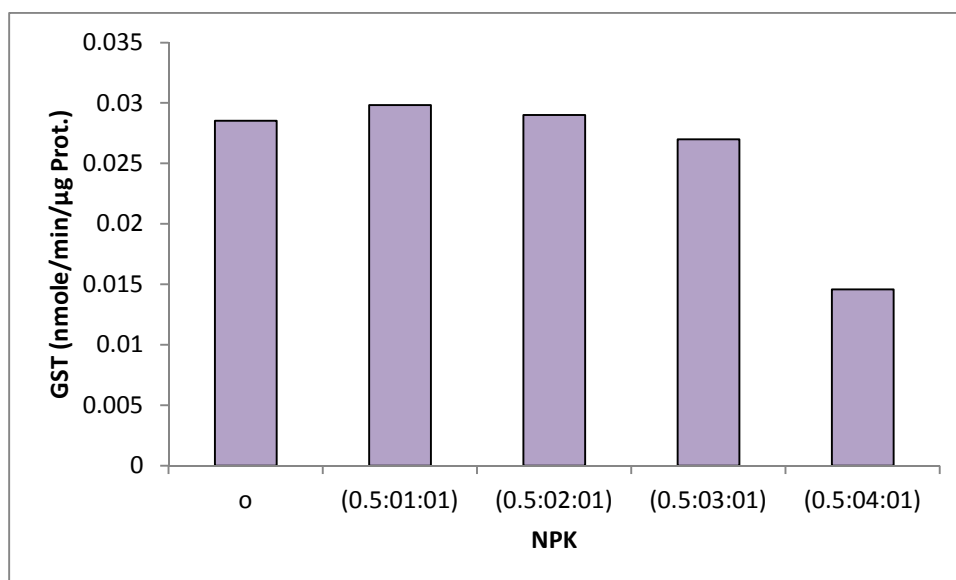


Figure 29. Effets des différents régimes NPK sur l'activité GST au niveau des racines après 14 jours de traitement.

La Figure (29) illustre les variations de l'activité GST en présence de différents régimes NPK au niveau des racines après 14 jours de traitement, Nos résultats montrent qu'en présence de NPK l'activité GST diminue de manière dose-dépendante et significative ($P=0,0182$) pour les traités par la proportion (0,5 :0,4 :0,1) NPK. En effet ce taux passe de 0.02853 nmole/min/ μ g de protéine chez le témoin à 0.01457 nmole/min/ μ g de protéine pour la proportion (0,5 :0,4 :0,1) NPK.

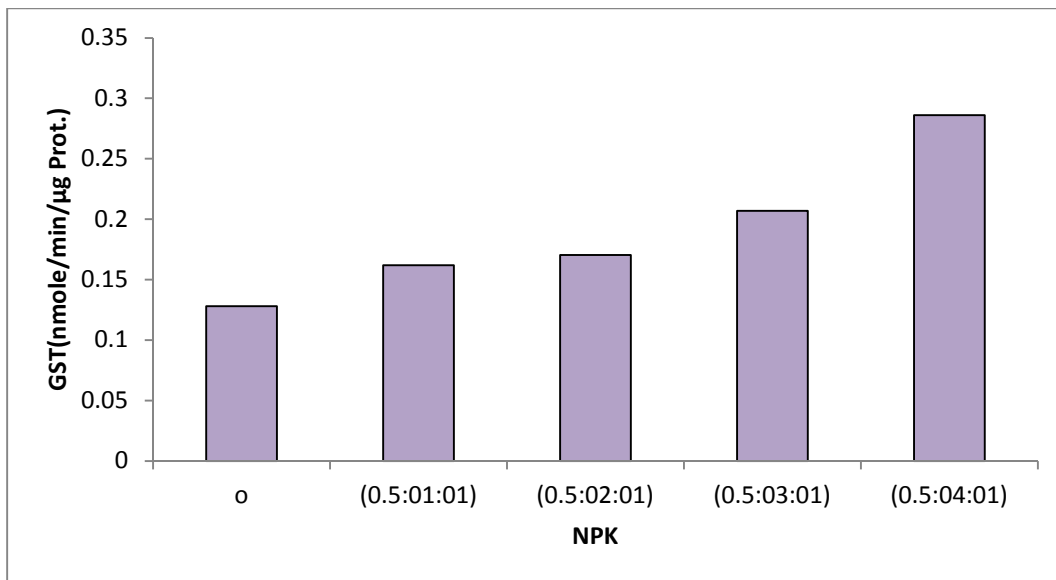


Figure 30. Effets des différents régimes NPK sur l'activité GST au niveau des tiges après 7 jours de traitement.

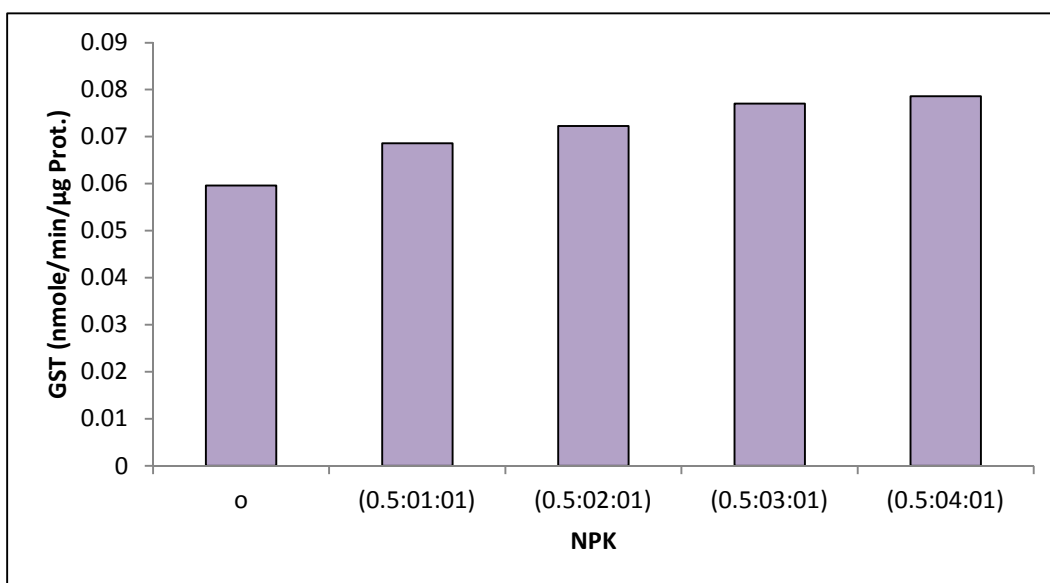


Figure 31. Effets des différents régimes NPK sur l'activité GST au niveau des tiges après 14 jours de traitement.

Les Figures (30) et (31), mettent en évidence les variations de l'activité de GST en présence de NPK au niveau des tiges après 7 et 14 jours, nos résultats montrent après 7 jours de traitement une augmentation de l'activité GST de manière dose-dépendante et significative ($P=0,018$). En effet ce taux passe de 0,1281 nmole/mn/μg de protéine chez les témoins à 0,286 nmole/mn/μg de protéine pour la proportion (0,5 :0,4 :0,1). Il en est de même pour cette activité enzymatique au niveau des tiges après 14 jours de traitement où le maximum de l'activité GST est observé avec le régime (0,5 :0,4 :0,1) avec une augmentation de l'ordre de 30% par rapport aux témoins.

Effet des différents traitements NPK sur le taux MDA:

Les résultats relatifs aux variations du taux de malondilaldehyde (MDA) au niveau des racines et des tiges traitées par les différentes concentrations de NPK sont représentés sur les Figures (32) et (33).

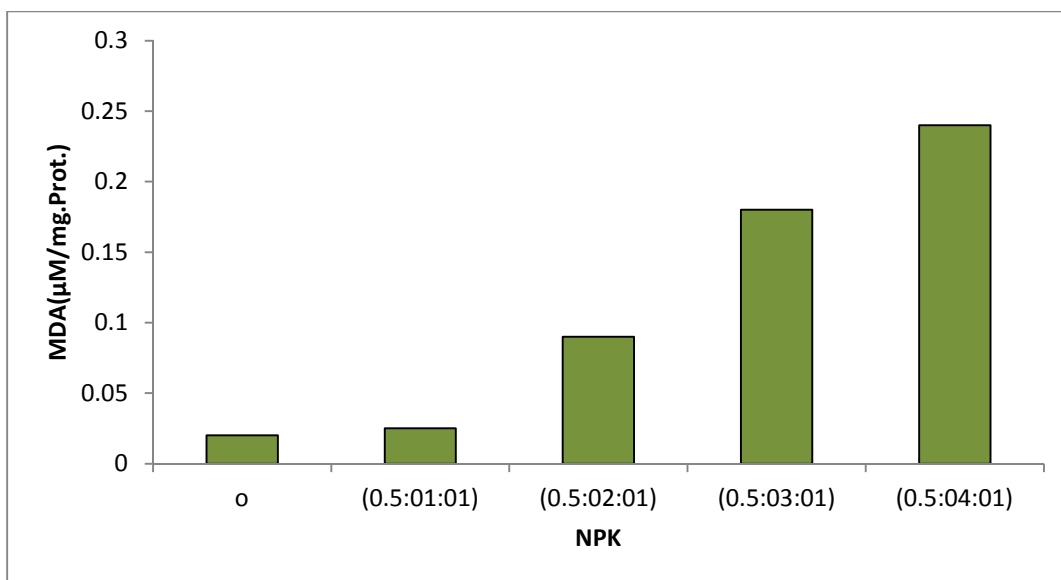


Figure 32. Effets de différents régimes NPK sur le taux MDA au niveau des racines après 7 jours de traitement.

Nous constatons que le traitement par différents régimes NPK a tendance à augmenter la teneur moyenne en MDA, et ce de manière dose-dépendante. En effet, nous notons une augmentation de 80% du taux MDA pour les traités avec le plus fort régime NPK (0,5 :0,4 :0,1) et ce par rapport aux témoins.

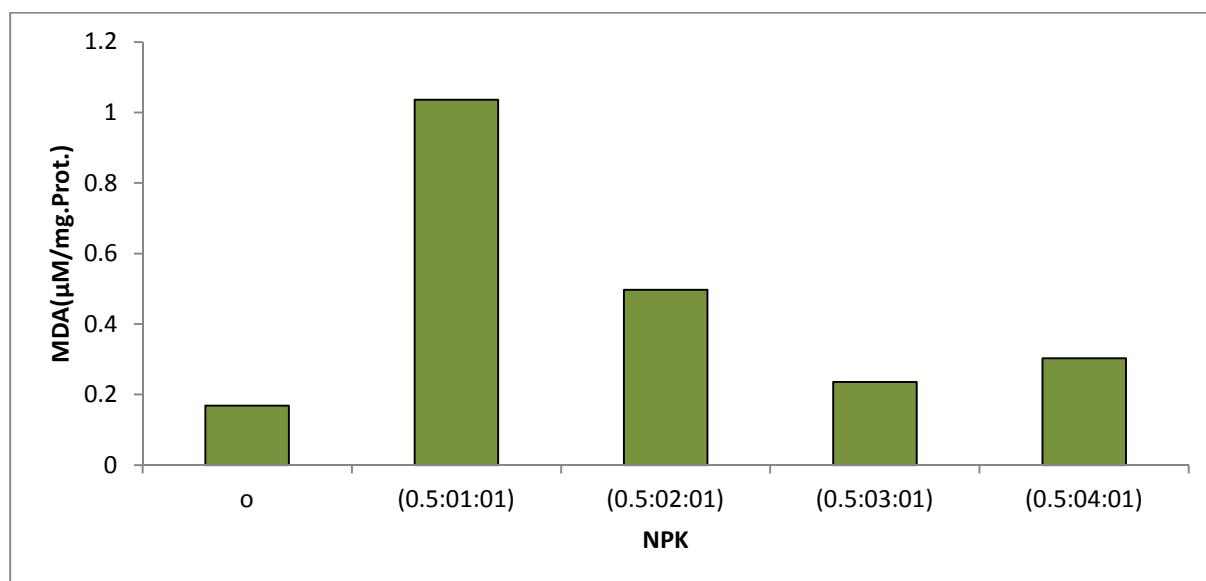


Figure 33. Effets de différents régimes NPK sur le taux MDA au niveau des tiges après 7 jours de traitement.

Nous constatons que le traitement par le NPK aux faibles concentrations de phosphore a tendance à stimuler l'activité enzymatique MDA (10 fois) ; alors une baisse est observée à partir de la deuxième concentration (0,5 :0,2 : 0,1), mais elle reste supérieure à celle observée chez les tiges témoins.

- Effet des différents traitements NPK sur le taux de Glutathion (GSH):

La Figure (34) illustre les variations du taux de GSH en présence de NPK au niveau des racines, ainsi nous constatons une diminution très hautement significative ($P=0,000$) et dose-dépendante de ce paramètre par rapport aux témoins, en effet, à la proportion (0.5 :0.4 : 0.1) de NPK, le taux de GSH est environ 4 fois plus élevé que chez les témoins avec respectivement $0.049 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéine pour la concentration (0,5 :0,4 : 0,1) et $0.22 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéine chez les témoins.

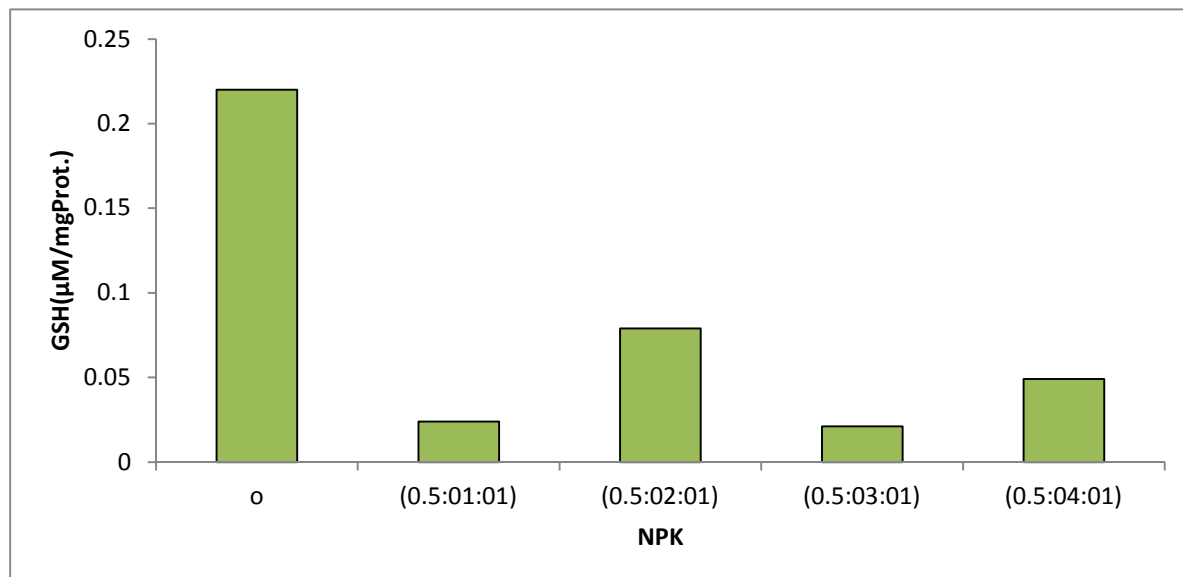


Figure 34. Effets des différents régimes NPK sur l'activité GSH au niveau des racines après 7 jours de traitement.

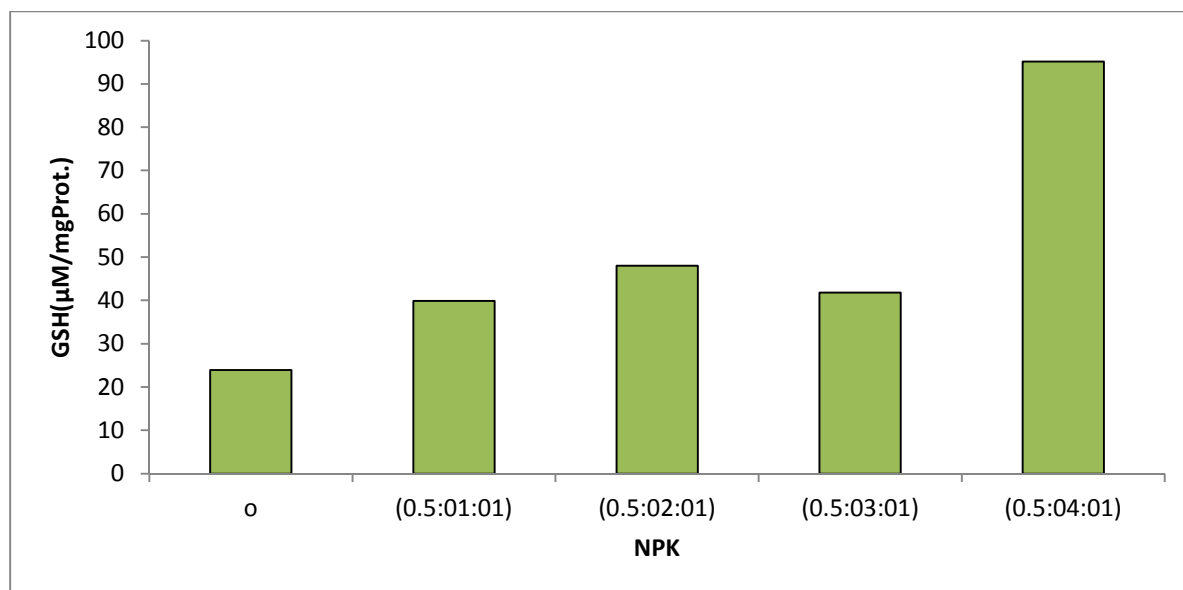


Figure 35. Effets des différents régimes NPK sur l'activité GSH au niveau des racines après 14 jours du traitement.

La Figure (35) illustre les variations du taux de GSH en présence de NPK au niveau des racines après 14 jours de traitement, le taux de GSH tend à augmenter de manière dose-dépendante et significative pour les traités par la proportion (0,5 :0,4 :0,1) par rapport aux témoins. En effet ce taux passe de 23.91 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéine chez le témoin à 95.15 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéine pour la proportion (0,5 :0,4 : 0,1) de NPK.

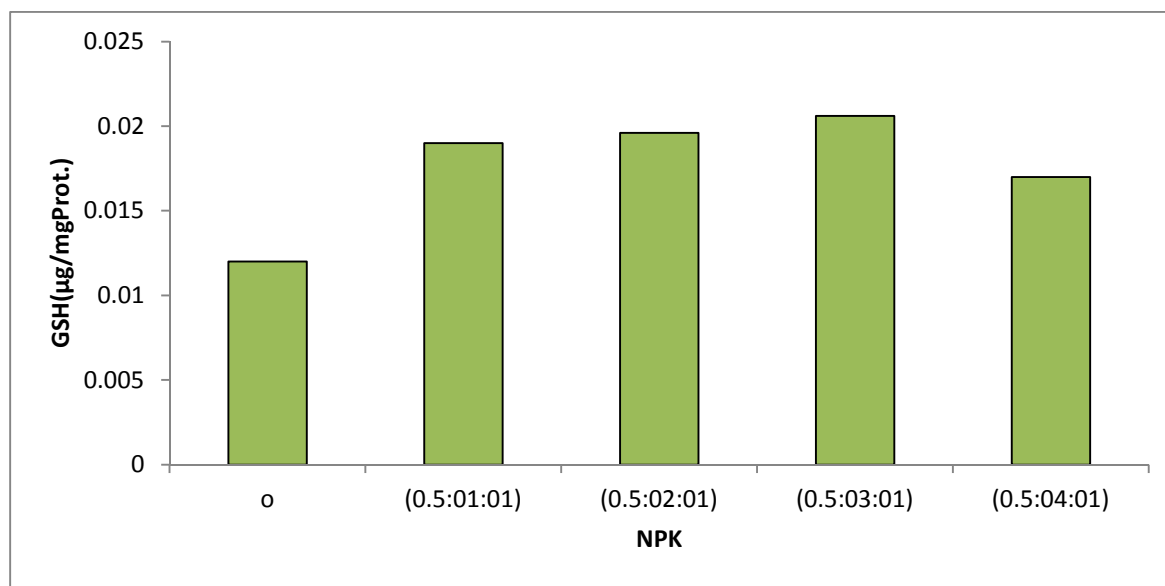


Figure 36. Effets des différents régimes NPK sur l'activité GSH au niveau des tiges après 7jours de traitement

La Figure (36) illustre les variations du taux de GSH en présence de NPK au niveau des tiges après 7jours de traitement, ainsi en présence de NPK, le taux de GSH au niveau des tiges augmente d'une manière non significative ($P=0,067$) à tous les concentrations par rapport au témoin. En effet ce taux passe de $0.012 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéine chez les témoins à $0.0170 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéine pour la proportion (0,5 :0,4 : 0,1) de NPK.

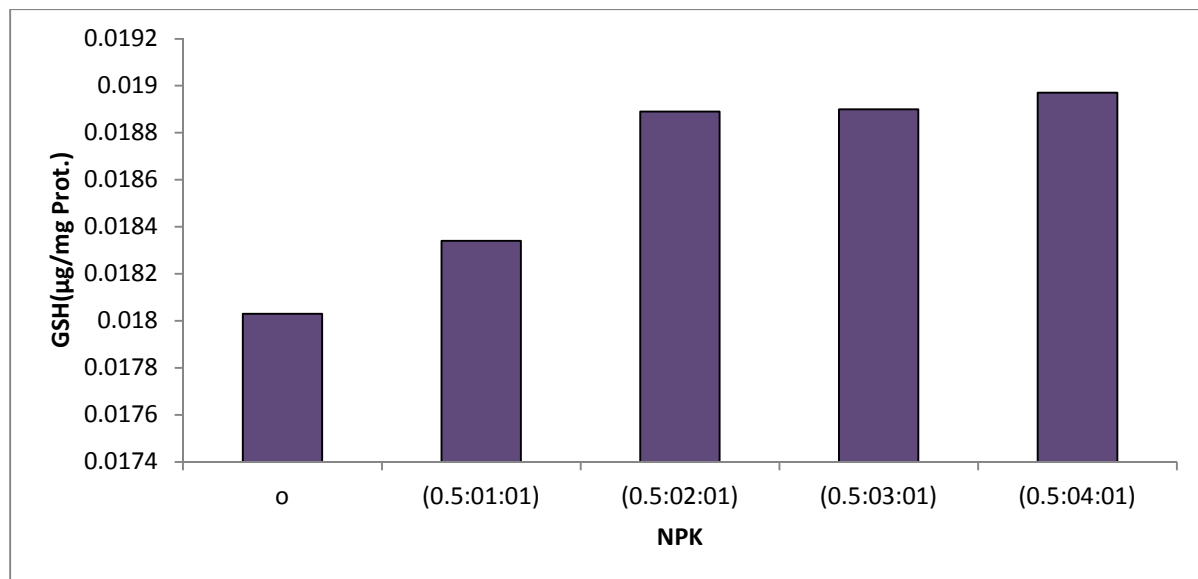


Figure 37. Effets des différents régimes NPK sur l'activité GSH au niveau des tiges après 14jours de traitement

Nous constatons que le traitement par différents régimes NPK à tendance à augmenter d'une manière significative ($P=0,039$) le taux de GSH, et dose-dépendante. En effet, nous notons une augmentation de 20% du taux GSH pour les traités avec le plus fort régime NPK (0.5 :0.4 :0.1) et ce par rapport aux témoins.

4. Discussions

Dans les compartiments aquatiques, la transformation photochimique est la principale voie de disparition des composés stables et peu biodégradables. Lorsque les polluants n'absorbent pas la lumière solaire, leur phototransformation peut être sensibilisée ou induite par

excitation d'autres espèces chromophores : composés métalliques, acides humiques et ions nitrates et nitrites qui peuvent conduire à la formation d'espèces oxydantes tels que les radicaux hydroxyles. (Marco et al., 1999).

La concentration des nitrates dans les eaux de surface et les eaux souterraines peut varier considérablement en fonction des conditions géochimiques, de l'eutrophisation des milieux aquatiques de surface, des pratiques de traitement des eaux usées, de l'utilisation d'engrais... (Marco et al., 1999)

Les ions nitrates jouent un rôle photochimique important dans les eaux naturelles. Leur concentration dans les eaux marines est de 10 μM , et ne cesse d'augmenter dans les eaux continentales par suite de l'utilisation importante d'engrais nitrés. (Ortiz et al., 2004).

Dans le milieu naturel, toute eau de surface contient des matières organiques naturelles ou d'origine anthropique et malheureusement de plus en plus de nitrates. Cette eau subit le rayonnement solaire, qui peut induire des réactions de photolyse. Ces ions absorbent la lumière solaire avec un maximum situé à 302 nm, et leur excitation conduit à la formation de radicaux hydroxyles, qui sont susceptibles d'oxyder la plupart des composés organiques avec une constante de vitesse proche de celle d'un processus contrôlé par la diffusion. (Marco et al., 1999).

Les ions nitrates sont considérés comme l'une des principales sources de radicaux hydroxyle dans les eaux naturelles (Fulkerson brekken et Brezonik, 1998). L'excitation des ions nitrates conduit à la formation d'oxygène atomique ($\text{O}\cdot$) après protonation conduit aux radicaux hydroxyle (warneck et al., 1988).

Pour appuyer ces études et confirmer cet effet toxique et générateur de radicaux libres du traitement des végétaux par les différentes concentrations NPK, nous nous sommes focalisés sur le suivi de certains paramètres considérés à juste titre comme biomarqueur de la Toxicité. Il s'agit entre-autre des activités enzymatiques de APX, CAT et GST ; et également de paramètres aussi importants qui sont le GSH dont la présence est indispensable à la cellule et à l'activité

GST, ainsi que le MDA qui est un indicateur de l'atteinte membranaire à travers la peroxydation lipidique.

- **Qu'en-est-il de l'activité APX?**

Nous avons mis en évidence une augmentation de l'activité APX dans les deux parties de la plante, et comme l'indiquant Gallogo et al. (2002). Qui ont mise en évidence une augmentation significative du taux de l'APX sous l'effet d'un stress chimique chez le tournesol. Nos résultats abondent dans le même sens que ceux de Taehyun et al., 2005 qui ont qui montrent une stimulation de la synthèse de l'APX chez la tomate en présence du phosphate.

L'augmentation de l'activité APX sous stress abiotique engendré par le NPK confirme l'induction de radicaux oxygénés formés suite à l'accumulation de ce xénobiotique au niveau les racines et les tiges de notre modèle végétal; l'APX réduit l'H₂O₂ en eau en utilisant l'ascorbate comme donneur d'électron à partir de la dehydroascorbate. (Sebartai et al., 2008).

- **Pourquoi cette augmentation de l'activité CAT?**

Autre coté, nous avons mis en évidence une augmentation de l'activité catalytique au niveau des racines et des tiges traitées par différentes concentrations de NPK par rapport aux témoins. Ces résultats abondent dans le même sens que ceux de Anca et al. (2006) qui montrent une stimulation de la synthèse du catalase en présence des nitrates et des nitrites chez le blé. Ces résultats nous permettent d'attribuer un rôle à la CAT dans les réactions de défenses aux stress environnementaux, en particulier la salinité. Matsumura et al. (2002), ont montré une augmentation de l'activité CAT chez le blé sous conditions de basses températures. Sairam et Srivastava (2001) indiquent une augmentation du contenu en H₂O₂ et de l'activité CAT sous conditions de stress hydrique chez le blé. Fedina et al. (2006) qui ont mis en évidence une forte augmentation du contenu en H₂O₂ chez l'orge cultivés sous conditions de stress salin.

- **Comment le GSH intervient-il et comment évolue-t-il?**

Sachant que le peroxyde d'hydrogène et les CAT interviennent dans le cycle du glutathion. Ainsi, l'amélioration de la tolérance aux contraintes abiotiques chez les plantes est attribuée à l'augmentation de leur capacité de détoxification des ERO, nous permettant ainsi de confirmer

indirectement la présence des radicaux libres induits par le traitement NPK particulièrement aux fortes concentrations.

Le glutathion est l'antioxydant non enzymatique majeur dans les cellules végétales, c'est le thiol cellulaire le plus abondant, impliqué dans le métabolisme, les procédés de transport et dans la protection des cellules contre les effets toxiques des composés endogènes et exogènes, y compris les espèces réactive de l'oxygène et les métaux lourds (Disckinson et Forman 2002). Le GSH est un composé réducteur soufré le plus abondant dans le compartiment intracellulaire. En interceptant un radical hydroxyde, le glutathion génère un radical superoxyde qui doit être pris en charge par une SOD, outre son rôle essentiel d'agent réducteur, le glutathion intervient également à un second niveau dans la défense antiradicalaire par son implication dans les réactions de détoxification catalysées par la glutathion-S-transférase (Barillet, 2007).

Dans notre travail, nous avons mis en évidence une diminution dose- dépendante du taux de GSH au niveau des racines en présence de différentes concentration NPK, cette déplétion peut être expliquée par la liaison directe du glutathion au composant de l'engrais (Barillet, 2007). Car la glutathion dispose d'un groupement acide carboxylique, d'un groupement amine, d'un groupement sulfhydryle (-SH) et de deux pontages peptidiques susceptible d'être impliquées dans des réactions avec l'engrais. Cette diminution est observée également au niveau des racines parallèlement à l'augmentation de l'activité GST.

Ainsi, la réaction du complexe engrais avec le glutathion pourrait se traduire par la formation de complexe (métal-GSH) ou par l'oxydation du GSH (Regolin et principato, 1995). Selon l'étude de Christie et Costa (1984) certains métaux entraînent l'oxydation du GSH comme le Cu, Co, Mn, Fe, et le Cr, tandis que d'autre des complexes stables avec le GSH sont formés par d'autre comme le Zn, Cd, Hg, Pb, Ni. Ces deux réactions pourraient expliquer la diminution du taux de glutathion (Halliwell et Gutteridge, 1999, Stohs et Bagchi, 1995). Selon Canesi et Viarengo (1997), une diminution du contenu de glutathion est principalement corrélée à une diminution de l'activité de la glutamyl cystéine synthétase, cette dernière intervient dans la biosynthèse de GSH.

D'un autre coté la réduction du taux de GSH peut être expliquée également par l'augmentation de l'utilisation de ce dernier par la GST dans la réaction de conjugaison.

Parallèlement à la diminution du taux de GSH, nous avons noté une augmentation de l'activité GST au niveau les tiges en présence du NPK. Cette augmentation est une réponse au stress oxydatif provoqué par la présence des engrais, les enzymes de biotransformation sont parmi les premières à répondre à la présence d'un xénobiotique dans un organisme vivant cette augmentation indique un taux élevée de conjugaison de particules métalliques avec le glutathion (Persié, 2004). Dans le système racinaire, on note une diminution de l'activité GST.

- **La toxicité du traitement NPK étant provoquée, quelle serait sa conséquence?**

L'attaque radicalaire des membranes provoque des modifications de la perméabilité membranaire liées à la formation de peroxydes lipidiques (Lawton et Donaldson 1991). La lipoperoxydation membranaire est une réaction en chaîne qui se déroule en trois étapes : (1) l'initiation correspond à l'attaque d'un acide gras polyinsaturé par un radical libre. (2) la propagation c'est-à-dire la peroxydation des phospholipides voisin et (3) la réaction cesse lorsqu'une molécule piège les radicaux libres (Coeurdassier et al, 2001) cette réaction conduit à la formation de produit cytosoliques et mutagènes de dégradation des acides gras comme les hydroperoxydes ou le malonedialdéhyde (Alpha Jollah et al, 2009).

Dans notre étude, Le dosage du taux de MDA réagissant avec l'acide thiobarbiturique, au niveau des racines cultivées en présence des concentrations croissantes en NPK montre que, le blé accumule beaucoup plus 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). L'augmentation de la peroxydation des lipides suite à l'addition de l' NPK traduit, une induction des effets oxydatifs des Formes active d'oxygène. Xue et al. (2001), notre travail est en parfait d'accord avec les travaux de (Radic et al; 2009) qui en montrer une augmentation des taux de l' MDA chez *Lemna minor* en présence du Aluminium.

Conclusion

Ainsi, dans cette partie, nous avons confirmé le caractère toxique oxydatif de l’NPK à travers l’étude des métabolites et des activités antioxydantes d’enzymes telle que la GSH; CAT et APX.

De ce fait une étude de bioaccumulation/bioconcentration de certain engrais s’avère complémentaire et peut nous aider à élucider cette différence de toxicité.

CHAPITRE 4:

METABOLISME RESPIRATOIRE

1. Introduction

La photosynthèse et la respiration sont deux phénomènes que produisent les plantes vertes. Sous une lumière particulièrement intense, la photosynthèse est le processus dominant. Pendant la nuit, ou en l'absence de lumière, la photosynthèse cesse, et la respiration devient le processus dominant : la plante consomme des nutriments (pour sa croissance ou une autre réaction métabolique).

1.2 Les Espèces Réactives de l'Oxygène

1.2.1. ERO ou radicaux libres ?

Les ERO désignent à la fois des espèces radicalaires de l'oxygène (O_2 , $O_2^{\cdot-}$) et des espèces non radicalaires. Ainsi, tous les radicaux oxygénés sont des ERO, mais tous les ERO ne sont pas des radicaux. (Halliwell, 2006).

1.2.2 Les différents types d'ERO

- **Les ERO primaires**

Différents types d'ERO, plus réactifs que l' O_2 , peuvent être formés dans les organismes vivants. Certaines, directement dérivées de la molécule de dioxygène, sont appelées ERO primaires. Dans un premier temps, un apport énergétique réorganise les électrons de la molécule de dioxygène pour former une des deux formes du dioxygène singulet (Foote et al., 1985).

- **Les ERO secondaires**

Les ERO secondaires correspondent aux ERO formées par réactions entre les ERO primaires et les composés biochimiques de la cellule. Le Tableau (11) présente quelques ERO secondaires. Contrairement aux ERO primaires, produites de façon régulière et en quantité

importante par les cellules végétales, les ERO secondaires sont seulement formées dans des conditions particulières. Mis à part certains peroxydes organiques, très peu d'études se sont intéressées à ces ERO, et leur importance biologique est discutable. Les Espèces Réactives de l'Azote (ERA) sont également présentées dans ce Tableau 11. Ces espèces particulières, possédant à la fois des capacités oxydantes et nitrifiantes, devraient plutôt être dénommées Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'Azote.

Tableau 11 : Présentation de quelques espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERA) radicalaires ou non (Halliwell, 2006).

Espèces radicalaires	Espèces non radicalaires
ERO : Carbonate, $\text{CO}_3^{\cdot-}$ Peroxyl, $\text{RO}_2^{\cdot}$ Alkoxyl, $\text{RO}^{\cdot}$ Radical dioxyde de carbone, $\text{CO}_2^{\cdot-}$	ERO : Acide hypobromeux, HOBr Acide hypochloreux, HOCl Peroxydes organiques, ROOH Peroxynitrite, ONOO^- Peroxynitrate, O_2NOO^- Acide peroxy-nitreux, ONOOH Peroxomonocarbonate, HCOOCO_2
ERA : Oxyde nitrique, $\cdot\text{NO}$ Dioxyde nitrique, $\cdot\text{NO}_2$ Radical nitrate, $\cdot\text{NO}_3$	ERA : Acide nitrique, HNO_2 Cation et anion nitrosyle, NO^+ et NO^- Tétraoxyde et trioxyde d'azote, N_2O_4 et N_2O_3 Peroxynitrite, ONOO^- Peroxynitrate, O_2NOO^- Acide peroxy-nitreux, ONOOH Cation nitronium, NO_2^+ Chlorure de nitrile, NO_2Cl

1.3 Production d'ERO lors des principaux processus métaboliques

1.3.1 Les chloroplastes et l'appareil photosynthétique

Les cellules chlorophylliennes, du fait de leur production d' O_2 au cours du processus photosynthétique, sont particulièrement exposées à la génération d'ERO. Le chloroplaste est

souvent considéré comme étant la principale source d'ERO chez les organismes photosynthétiques (Edreva, 2005; Asada, 2006).

Le processus photosynthétique est à l'origine de la formation directe d' $^1\text{O}_2$ et d' $\text{O}_2^{\cdot -}$ et indirecte d' H_2O_2 (par dismutation de l' $\text{O}_2^{\cdot -}$) et d' $\text{OH}^{\cdot}$. Il y a encore peu de temps, le photosystème I (PSI) était considéré comme la source principale des ERO chloroplastiques. Dans des conditions physiologiques normales, le flux d'électrons du PSI est dirigé vers le NADP qui est réduit en NADPH par la ferrédoxine NADP réductase (FNR).

Lors d'un stress (par exemple, une luminosité trop importante), la chaîne d'électrons peut se saturer. Une partie du flux d'électrons peut être alors dérivée par la ferrédoxine vers l'oxygène. Cette réaction est connue sous le nom de réaction de Mehler. En plus de la ferrédoxine, d'autres accepteurs d'électrons du PSI possèdent un potentiel redox suffisamment négatif pour réduire le dioxygène en anion superoxyde (Mehler, 1951; Asada et al., 1994).

Le PSII est également un site de génération d' $\text{O}_2^{\cdot -}$ (Cleland and Grace, 1999; Dat et al., 2000). Les quinones A et B du PSII seraient impliquées dans la perte d'électrons conduisant à la réduction de l' O_2 . Certains auteurs ont même suggéré que la production chloroplastique d'anions superoxydes serait majoritairement le fait de cette perte d'électrons du PSII, en particulier au niveau des quinones B (Zhang et al., 2003). La chlorophylle a (Chl a) du PSII possède également la capacité de transmettre directement un électron à l'oxygène, en cas de saturation de la CTE (Hippeli et al., 1999). Cette réaction dite photodynamique de classe I est caractérisée par les réactions suivantes :

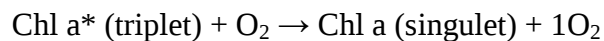
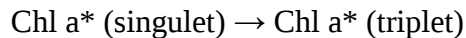
$\text{Chl a} + \text{lumière} \rightarrow \text{Chl a}^*$ (Chl a excitée)

$\text{Chl a}^* \rightarrow {}^+\text{Chl a}^-$ (séparation des charges)

${}^+\text{Chl a}^- + \text{O}_2 \rightarrow {}^+\text{Chl a} + \text{O}_2^{\cdot -}$

Une fois produits, les ions $\text{O}_2^{\cdot -}$ peuvent se retrouver dans le lumen où ils se protonent pour former des $\text{HO}_2^{\cdot}$ susceptibles d'initier une peroxydation lipidique. Les anions superoxydes sont aussi produits dans le stroma où ils sont rapidement pris en charge par la superoxyde dismutase (SOD), responsable de leur dismutation en H_2O_2 (Foyer et al., 1994).

La saturation de la CTE peut également conduire la Chl a du PSII à interagir avec le dioxygène, via une réaction photodynamique de classe II, induisant à la formation d' 1O_2 et non d' O_2^- (Niyogi, 1999). Dans ce cas, la Chl a excitée ne trouve pas d'accepteur d'électrons et perd progressivement de son excitation par des dégagements de chaleur et un réarrangement des électrons sur sa couche orbitale externe. Ce réarrangement fait passer la Chl a de l'état singulet à triplet, le tout accompagné d'une inversion de spins. La Chl a, sous forme triplet, peut alors transmettre une partie de son énergie à une molécule de dioxygène dont la couche externe d'électrons se réorganise, conduisant à la formation d'oxygène singulet :



1.3.2 Les mitochondries et la chaîne respiratoire

De la même manière que chez les autres organismes aérobies, les mitochondries constituent une source importante d'ERO chez les plantes. Néanmoins, chez ces dernières, la part de la production d'ERO due aux mitochondries, est variable en fonction de l'organe considéré et des conditions du milieu (en particulier l'ensoleillement). Ainsi, elles constituent la source principale d'ERO dans les cellules non-chlorophylliennes, alors qu'elles ne représentent qu'une faible part dans les cellules chlorophylliennes exposées à la lumière (Foyer and Noctor, 2003).

Les mitochondries des végétaux diffèrent de leurs homologues animales par une chaîne de transport d'électrons différentes, et des fonctions supplémentaires comme la participation au cycle de la photorespiration (Noctor et al., 2007). De plus, les mitochondries des cellules photosynthétiques évoluent dans un environnement particulier, riche en oxygène et en carbohydrates.

Dans des conditions physiologiques normales, environ 2 % du dioxygène total consommé par la mitochondrie est transformé en ERO (Boveris and Chance, 1973). De la même façon que pour la CTE des chloroplastes, c'est une saturation de la CTE mitochondriale qui semble être la

cause des pertes d'électrons vers l'O₂. Les composés intermédiaires radicalaires d'ubi semi quinones, formés par la réduction du pool d'ubiquinones par les complexes I et III de la CTE, seraient les principaux donneurs d'électrons au dioxygène (Moller, 2001; Rhoads et al., 2006).

La production d'ERO à proximité des CTE peut générer des dégâts membranaires, induisant une diminution accrue de l'efficacité de la CTE et une perte plus importante d'électrons. La résultante est une augmentation de la génération d'ERO diminuant d'autant plus l'efficacité de la CTE.

1.4 La photorespiration

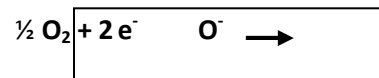
La photorespiration est un processus vital pour les plantes. Bien qu'il apparaisse comme un mécanisme coûteux en énergie et peu rentable, ce mécanisme physiologique remplit le rôle de « soupape de sécurité » du photosystème, en évitant la saturation de la CTE chloroplastique (Wingler et al., 2000).

La photorespiration est un processus complexe illustrant bien les échanges de métabolites entre les différents composants cellulaires. En effet, il implique des réactions métaboliques dans le chloroplaste, la mitochondrie et le peroxysome (Foyer et al., 2001).

La réaction de transamination du glycolate, effectuée dans le peroxysome, conduit à la formation de glyoxylate et d'H₂O₂ (Wingler et al., 2000; Nyathi and Baker, 2006).

2. Matériel et Méthodes

2.1. 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). La méthode utilisée est adaptée aux racines isolées, (Djebar et Djebar, 2000).

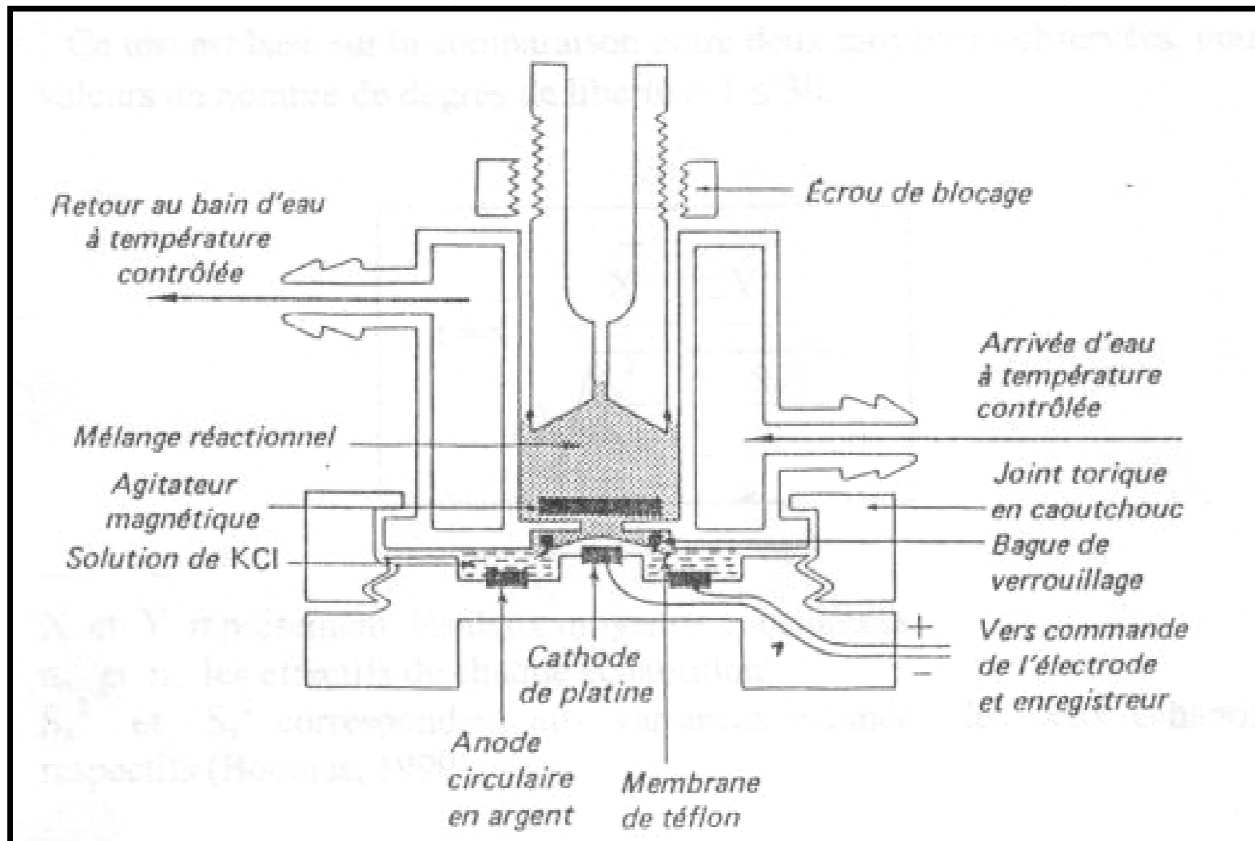


Figure 38 : Schéma de l'électrode à oxygène (Djebar et Djebar, 2000)

2.2. Etude du métabolisme photosynthétique

L'intensité photosynthétique des feuilles isolées est mesurée par l'électrode à oxygène comme pour l'intensité respiratoire et l'échantillon (feuilles) est caché par un manteau noir afin de réduire au maximum le processus métabolique.

6. Résultats

6.1 Effet de NPK sur le métabolisme respiratoire des racines

L'évolution du métabolisme respiratoire des racines des graines de blé soumises au traitement par les différentes concentrations NPK est présentée dans la Figure 39

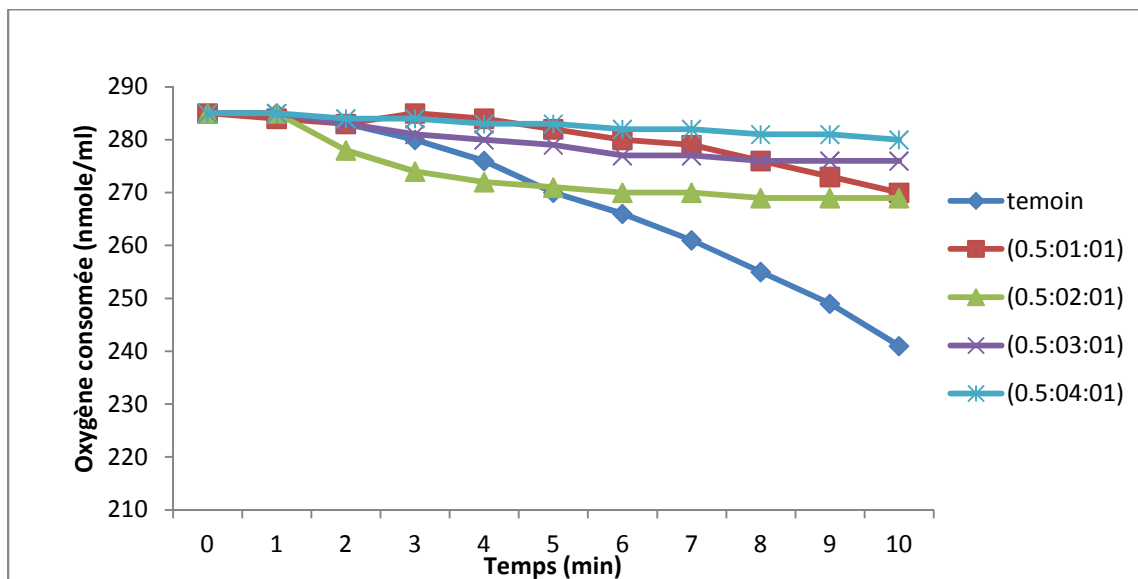


Figure 39 : Enregistrement de l'activité respiratoire des racines de blé soumises au traitement par les différents régimes NPK après 7 jours du traitement.

Cette Figure montre que les racines des graines témoins présentent une forte activité respiratoire atteignant les 241 moles O_2 à la dixième minute de l'enregistrement. Cette consommation est de 44 moles après 10 min d'enregistrement. Le traitement par les deux premières combinaisons de NPK provoque une assez forte inhibition de l'activité respiratoire qui avoisine les 15 moles O_2 . Il en est de même pour la combinaison NPK (0.5 : 0,3: 0,1) : 9 moles O_2 .

Cependant, la plus forte combinaison de NPK à tendance à perturber fortement l'activité respiratoire en effet, après 10 minutes d'enregistrement la quantité d' O_2 consommée par les racines isolées est de 280 moles. Ce qui se traduit par une consommation très faible 5moles O_2 . Comparée à l'activité respiratoire des racines témoins, celle-ci est près de 9 fois inférieure.

La Figure 40 représente les effets des différentes combinaisons NPK sur l'activité respiratoire des racines isolées après 14 jours de traitement

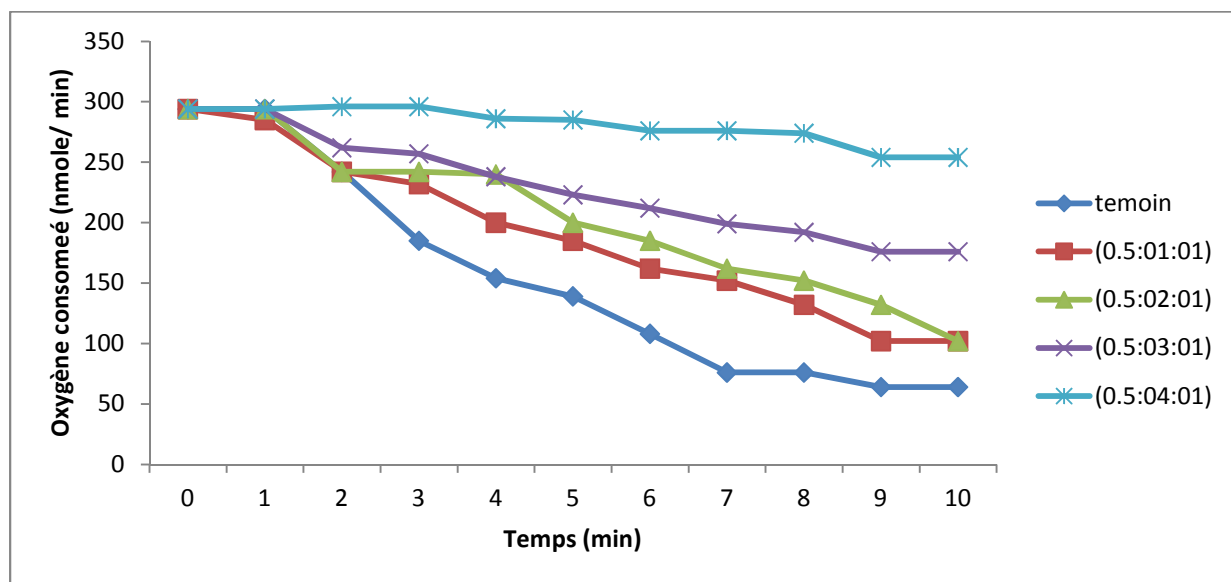


Figure 40: Enregistrement du métabolisme respiratoire des racines de blé soumises au traitement par les différentes concentrations de NPK après 14 jours du traitement.

On constate une forte activité respiratoire observée chez les racines témoins et qui est exprimée par une consommation d'O₂ de près de 250 moles O₂ à la 8^{ème} minute d'enregistrement.

on observe aussi que le traitement par la première combinaisons NPK inhibe légèrement l'activité respiratoire.

La deuxième et la troisième combinaison NPK quand à elles donnent des résultats édentiques et inhibent l'activité respiratoire des racines isolée de près de 50% par rapport aux racines témoins

Enfin, le traitement par la combinaison la plus forte provoque une forte inhibition de l'activité respiratoire dont la consommation d'O₂ passe de 300 moles d'O₂ à 250 moles environ ; cad à peine 50 mols O₂ ou bout de 10 minutes d'enregistrement.

Ainsi le traitement par les différentes combinaisons NPK après 14 jours montre que l'activité respiratoire des racines isolées de blé dur est inhibée proportionnellement aux concentrations NPK utilisées.

6.2 Effet de NPK sur le métabolisme respiratoire de tiges du blé

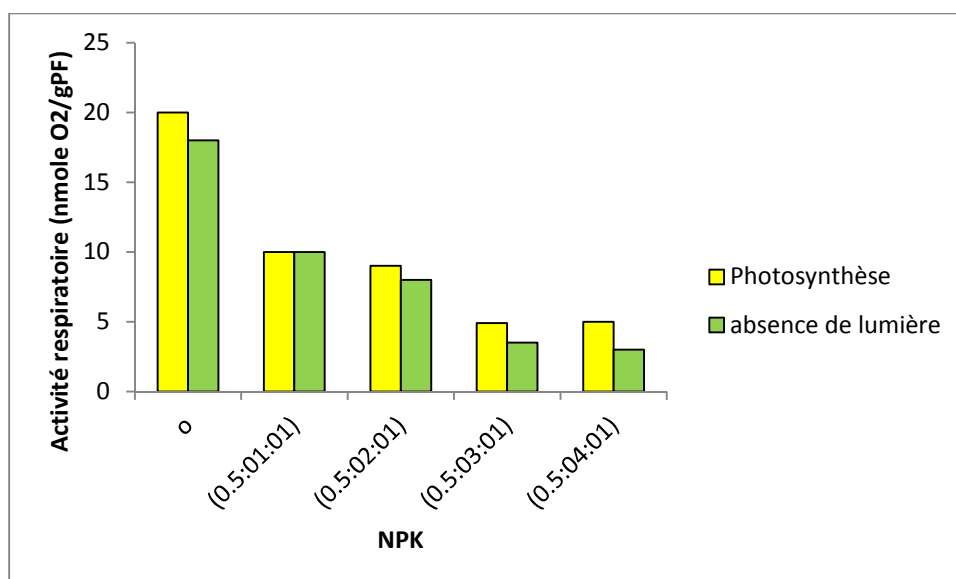


Figure 41 : Evolution de l'activité respiratoire des tiges issue de plantules de blé en présence de différents régimes de NPK. Après 7 jours du traitement.

On constate que l'activité respiratoire des plantules témoins enregistrée en absence de lumière est de 18 nmole O₂/min/g. PF. La présence de lumière déclenche chez les feuilles issues des plantules de blé une production d'oxygène dans le milieu due au déclenchement de la photosynthèse où on enregistre d'ailleurs une forte production d'oxygène équivalente

à 20 nmole O₂/min/g. PF. Le traitement par les différents régimes de NPK provoque une baisse de l'activité respiratoire de près de 90%.

En présence de lumière, la baisse de l'activité respiratoire enregistrée est de 75%. Et on obtient 90%. Il ressort de cette première série d'expérience que les deux phénomènes métaboliques chez le blé semblent être affectés de la même façon, en effet la respiration et la photosynthèse sont tous les deux fortement inhibées par les différentes combinaisons NPK.

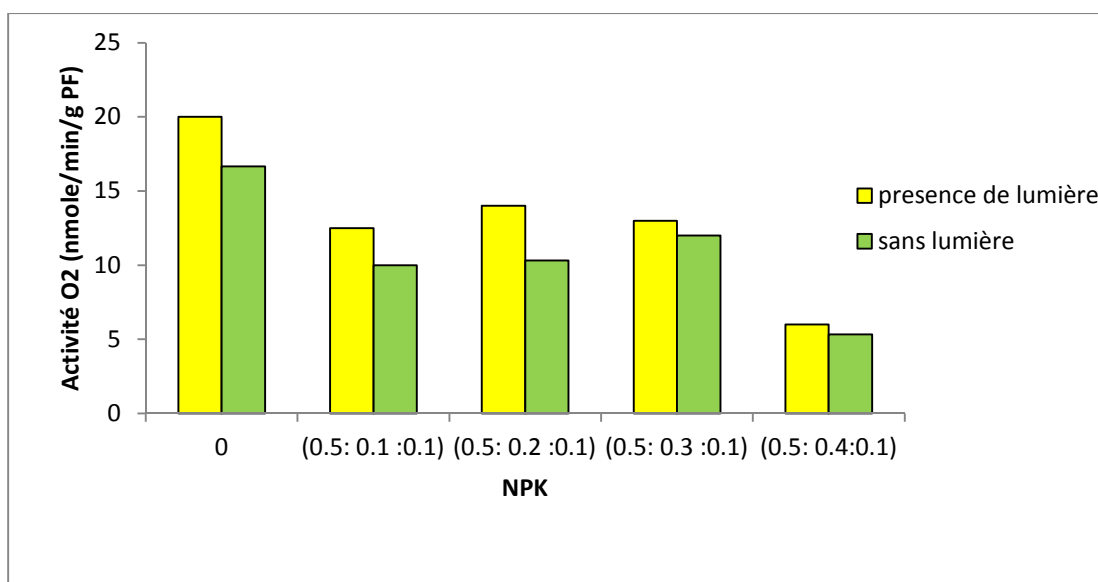


Figure 42: Evolution de l'activité respiratoire des tiges issue de plantules de blé en présence de différents régimes de NPK. Après 14 jours du traitement.

On constate que l'activité respiratoire enregistrée chez les plantules issues des tiges de blé témoins en présence de la lumière est plus élevée que celles correspondantes aux plantules sans lumière. Il en est de même pour toutes les concentrations de NPK utilisées.

Parallèlement, on note une baisse progressive et continue de cette activité proportionnellement aux concentrations de NPK utilisées. Cette baisse est de 75%.

Il ressort de l'ensemble de ces résultats que le traitement par le NPK provoque une baisse importante de l'activité respiratoire (respiration et photosynthèse compris).

7. Discussion

L'ensemble des résultats obtenus dans cette partie de notre travail montrent que le traitement des racines isolées de blé réduit fortement l'activité respiratoire. Cette inhibition serait d'une part due à la présence des ERO qui sont connus comme éléments perturbateurs aussi bien du métabolisme respiratoire que la photosynthèse (Kiss et al., 2003 ; Kuciel et Mazurkiewicz, 2004) et d'autre part elle pourrait être expliquée par le fait que les divers éléments composant l'engrais (N ; P ; K) pourraient interférer dans le métabolisme respiratoire de façon directe sur la chaîne respiratoire des mitochondries. En effet, il a été montré qu'aux niveaux des racines de blé dur certains canaux calciques voltage dépendant de la membrane plasmique connus sous l'appellation (RCA) et qui contrôlent le $\Delta\Psi$ (Potentiel de la pression) membranaire, sont perméables aux oligoéléments et ceux en présence de calcium (White, 2000).

Parallèlement les résultats obtenus dans notre travail, nous permettent de constater qu'aussi bien la respiration que la photosynthèse sont inhibées par le NPK chez les plantules issues des grains de blé. Cet effet là est dû à la perturbation de la phosphorylation oxydative mitochondriale (Chagra et al., 2009). Cette perturbation s'expliquerait par l'interférence du phosphore dans les activités enzymatiques respiratoires et par conséquent dans le mécanisme de la phosphorylation oxydative.

8. Conclusion

La présence de NPK dans le protoplasme conduit à des perturbations dans la balance ionique, au niveau des enzymes des membranes et autres macromolécules. Ces perturbations entraînent une faible production d'énergie par la phosphorylation et la photo-respiration, une assimilation de l'azote perturbée, et un dérèglement de nombreuses voies métaboliques. Si la concentration en engrais excède le niveau de tolérance de la plante, des perturbations fonctionnelles apparaissent au niveau de la photosynthèse, en effet, la présence de l'NPK dans le stroma des chloroplastes perturbe le transport des électrons. La glycolyse et le cycle de Krebs sont aussi affectés. L'acquisition de nutriments minéraux, comme le potassium, les nitrates ou le calcium est également réduite. La croissance de blé est perturbée par de trop fortes concentrations de l'engrais. La plante montre alors des signes de stress par la destruction de la chlorophylle.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Les engrais chimiques permettent d'obtenir un plus grand rendement agricole, mais sont responsables d'une [pollution massive des sols](#) et de l'eau, en effet, leur utilisation pose de sérieux problèmes pour l'environnement et la santé humaine et animale. Les engrais constituent une source de nutriments qui assure à la plante une croissance et une bonne résistance aux maladies. Une fertilisation excessive entraîne la pollution des eaux et des sols par une concentration élevée en nitrates et phosphates.

Les résultats des expériences relatives à l'étude des effets des différents régimes NPK permettent de tirer un certain nombre de conclusions et d'avancer quelques hypothèses.

Les résultats de notre étude concernant les paramètres physiologiques et biochimiques des racines et tiges soumises aux différents traitements NPK montrent que l'ensemble des paramètres étudiés (en particulier la croissance des tiges et des racines, la teneur moyenne en protéine, le taux des sucres totaux et le taux de la proline) sont fortement affectés en présence de différents régimes NPK.

En ce qui concerne l'étude des biomarqueurs d'exposition nous avons mis en évidence une augmentation significative de l'activité APX, parallèlement une augmentation de l'activité Catalase, connu pour leur rôle dans la détoxification au niveau des tiges et des racines. Et une augmentation du taux MDA, en effet, l'augmentation de ce dernier perturbe la fluidité membranaire, rend la membrane plus perméable, modifiant ainsi les homéostasies chimiques et redox cellulaires.

En ce qui concerne les paramètres métaboliques à savoir la photosynthèse et la respiration, il apparaît clairement qu'elles sont très affectées en présence des différents régimes NPK, cette inhibition est liée à la présence des ERO, en effet, que la toxicité des ERO s'exprime par de nombreux aspects, et en particulier par la perturbation de nombreux processus physiologiques comme la photosynthèse (Dat et al., 2000). Cette toxicité s'explique par la réactivité des ERO, en particulier celle de l' $\cdot\text{OH}$, envers les macromolécules biologiques.

L'ensemble des résultats obtenus nous laisse suggérer l'hypothèse suivante : les perturbations observées dans le métabolisme protéique seraient en fait la traduction de

perturbation du contenu protéique (les ERO induit des cassures, et les protéines oxydées perdent leurs propriétés biologiques, et elles deviennent plus sensibles à l'action des protéases (Stadtman and Levine, 2000)).

Les perturbations enzymatiques enregistrées touchent aussi bien la chlorophylle que les sucres totaux et plus particulièrement les mécanismes énergétiques de l'ATP (ATPase mitochondriale) ; c'est effectivement ce que nous observons lors de des phosphorylations oxydative enregistrées en présence de différentes proportions NPK. On assisterait ainsi à une inhibition de la phosphorylation de ADP en ATP due elle-même à une perturbation du fonctionnement de l'ATP ase à l'origine d'un découplage de la phosphorylation oxydative, ce qui est en parfait d'accord avec les résultats de (Loeb et al., 2005).

Cillard et Cillard, 2006 montrent que Les lipides, et principalement les acides gras polyinsaturés (AGPI) membranaires, sont la cible privilégiée des ERO. Ces dernier stimulent les lipoxygénases et entraînent une destruction des membranes et la mort des cellules. Ces effets apparaissent sans que l'organisme en question ne soit fortement (visiblement) affecté.

Au terme de notre travail, il ressort :

- Les racines sont d'excellents bio-indicateurs de la pollution.
- Le NPK provoque des perturbations physico-chimiques, enzymatiques et métaboliques au niveau les racines et les tiges de notre modèle végétal.
- Certains activités enzymatiques peuvent aussi nous permettent de diagnostiquer la phytotoxicité de certains engrais (CAT, APX et GST par exemple).
- La respiration et la photosynthèse sont deux phénomènes très importants dans le fonctionnement cellulaire peuvent servir comme moyen d'évaluation de la toxicité des polluants.

Cependant, il reste de nombreux problèmes à résoudre concernant la relation entre la molécule d'engrais et l'induction enzymatique ou à niveau plus complexe encore : l'activité ATPasique.

Dans ce cadre il serait intéressant de mener ces investigations directement sur des organites subcellulaires isolés (membrane plasmiques, chloroplastes, vacuoles...) à partir de plantes traitées ou pas (in vivo) par des engrais.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

Abdelkrim F., Djebbar R. et Aid F., 2005. Effet d'un stress osmotique sur la germination et le début de croissance de deux variétés de colza : *Brassica napus* L. Eurol et Goeland. 1er Colloque Euroméditerranéen de Biologie Végétale et Environnement, Annaba 28-30 novembre 2005.

Abdul W., 2004. Analysis of toxic and osmotic effects of sodium chloride on leaf growth and economic yield of sugarcane. Bot. Bull. Acad. Sin. 45: 133-141.

Addad D., Hamli S. et Bouaerzour H., 2005. Etude de la réponse des plantules de blé dur (*Triticum durum* Desf.) aux stress abiotiques et des liaisons avec le comportement de la plante en plein champ. 1er Colloque Euro-méditerranéen de Biologie Végétale et Environnement, Annaba 28-30 novembre 2005.

Alia K.V.S.K., Prasad P., Pardha S., 1995. Effect of Zinc on free radicals and proline in brassica and cajanus. Phytochemistry. 39.1 : 45-47.

Ait Haddou R., Hermouche M., 1997. Etude de l'effet des boues résiduelles sur la production de la pomme de terre en comparaison avec le fumier de ferme et la litière de volaille. INRAA 16:51-58.

Almeida Viégas R., Gomes da Silveira J. A. 1999. Ammonia assimilation and proline accumulation in young cashew plants during long term exposure to NaCl salinity. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal. 11 (3):153-159.

Almeras E., Stolz S, Vollenweider S., Reymond P., Mene-Saffrane L., Farmer E.E., 2003. Reactive electrophile species activate defense gene expression in *Arabidopsis*. The Plant Journal 34(2): 205-216.

Alpha Jollah M., Chen J., Zhen, F. Zang G., 2009. Effect of different N fertilizer forms on antioxidant capacity and grain yield of rice growing under Cd stress. Journal of Hazardous Materiel. 162 :1276-1281.

Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S., 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany 53(372): 1331-1341.

Anca H., Ovidiu T., Eugen U., Lucian N., 2006. L'influence des nitrates et des nitrites sur les activités de la catalase et de la peroxydase au cours de la germination des graines de *Triticum aestivum*. Analele stiintifice ale Universitatii, Alexandu Ioan Cuza, sectiunea Genetica si biologie Moleculara, 7: 65-68.

Angelini R., Manes F., Federico R., 1990. Spatial and functional correlation between diamineoxidase and peroxidase activities and their dependence upon de-etiolation and wounding in chick-pea stems. Planta 182(1): 89-96.

Arasimowicz M., Floryszak-Wieczorek J., 2007. Nitric oxide as a bioactive signalling molecule in plant stress responses. *Plant Science* 172(5): 876-887.

Arora A., Sairam R., Srivastava G., 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science* 82(10): 1227-1238.

Asada K., 1994. Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues. Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defence Systems in Plants. C. H. Foyer and P. M. Mullineaux. Boca Raton, CRC Press: 77-104.

Asada K., 1999. The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50(1): 601-639.

Asada K., 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 355(1402): 1419-1431.

Asada K., 2006. Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts and Their Functions. *Plant Physiology* 141(2): 391-396.

Asada K., Kiso k., Yoshikawa K., 1994. Univalent Reduction of Molecular Oxygen by Spinach Chloroplasts on Illumination." *Journal of Biological Chemistry* 249(7): 2175-2181.

ASMIDAL. 2004. L'année 2003 par les chiffres. *ASMIDAL infos*, 22 (janvier).

Baier M., Dietz K-J., 1997. The plant 2-Cys peroxiredoxin BAS1 is a nuclear-encoded chloroplast protein: its expressional regulation, phylogenetic origin, and implications for its specific physiological function in plants. *The Plant Journal* 12(1): 179-190.

Bajji M. 1999. Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variantes somaclonales sélectionnés *In vitro*. Thèse de doctorat. Univ. Louvain.

Bajji M., Kinet J.M., Lutts Stanley, 1998. Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures. *Plant. Science.* 137: 131-142.

Baisak R., Rana D., Acharya P.B.B, Kar M., 1994. Alteration in activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stress. *Cell Physiol.* 35: 489-459.

Baker A., Graham I.A., Holdsworth M., Smith S.M., Theodoulou F.L., 2006. Chewing the fat: β -oxidation in signalling and development. *Trends in Plant Science* 11(3): 124-132.

Barcelo J. Poschenrieder C., 1990. Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review. *Journal of Plant Nutrition* ; Vol/Issue: 13:1; 1-37.

Barillet S., 2007. Toxicocinetique, toxicité chimique et radiologique de l'uranium chez le poisson zebre. Th7se de doctorat. Université Paul Verlqine de Metz. France. 476.

Bar-Nun N., Poljakoff-Mayber A., 1979. Intervarietal differences in the amino acid composition of pea roots as related to their response to salinity. *Ann. Bot.*, 44, . 309 – 314.

Bartosz G., 1997. Oxidative stress in plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 19(1): 47-64.

Bazzaz FA, Carlson R.W., Rolfe G.L., 1975. Inhibition of Corn and Sunflower Photosynthesis by Lead. *Physiologia Plantarum* 34(4): 326-329.

Becana M., Paris F.J., Sandalio L.M., Del Rio L.A., 1989. Isoenzymes of Superoxide Dismutase in Nodules of *Phaseolus vulgaris* L., *Pisum sativum* L., and *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Plant Physiology* 90(4): 1286-1292.

Beckman J.S., Koppenol W.H., 1996. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol Cell Physiol* 271(5): C1424-1437.

Beckman K.B., Ames B.N., 1997. Oxidative Decay of DNA. *J. Biol. Chem.* 272(32): 19633-19636.

Bellinger Y., Bensaoud A., Larher F. 1991. Physiological significance of proline accumulation, a trait of use to breeding for tress tolerance. Colloque Physiology- Breeding of winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments, Montpellier (France). Ed. Les colloques .55. Inra. Paris.

Belkhouджа M., 1996. Action de la salinité sur les teneurs en proline des organes Adultes de trois lignées de fève (*Vicia faba* L.) au cours de leur développement. *Acta bot. Gallica*, vol. 143(1) :21-28.

Ben Naceur M., Gharbi M.S., Paul R., 1999. L'amélioration variétale et les autres actions contribuant à la sécurité alimentaire en Tunisie en matière de céréales. *Sécheresse*. (10): 27- 33.

Benaceur M., Rahmoun C., Sdiri H., Medahi M., Selmi M., 2001. Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production de grains de blé. *Secheresse*, 12 (3): 167-174.

Benavides P.M., Marconi L.P., Gallego M.S., Comba E.M., Tomaro L.M., 2000. Relationship between antioxidant defence systems and salt tolerance in *Solanum tuberosum*. *Aust. J. Plant Physiol.* 27, 273-278.

Ben Khaled L., Morte Gómez A., Ouarraquel M., Oihabi A., 2003. Réponses physiologiques et biochimiques du trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) à la double association Mycorhizes-*Rhizobium* sous une contrainte saline. *INRA, EDP Sciences. Agronomie.* 23: 571–580.

Ben Salem M., Boussen H., Slama A., 1997. Évaluation de la résistance à la contrainte hydrique et calorique d'une collection de blé dur : recherche de paramètres précoces de sélection. Sixièmes Journées scientifiques du réseau Biotech.-Génie Génétique des plantes, Agence francophone pour l'enseignement supérieur et la recherche (AUPELF /U R E F). Orsay. *Sécheresse*. (2) : 75- 83.

Bensari M., Calme S.J., Viala G., 1990. Répartition du carbone fixé par photosynthèse entre l'amidon et le saccharose dans la feuille de soja : influence d'un déficit hydrique : *Plant physiol. Biochimie*. 28 : 113-124.

Benterrouche I., Rahmoune C., 2005. Effet de l'utilisation des boues d'épuration comme fertilisant sur la pollution, la croissance et le développement d'essences forestières urbaines. 1er Colloque Euroméditerranéen de Biologie Végétale et Environnement, Annaba 28-30 novembre 2005.

Bergareche C., Llusia J., Febrero A., Bort J., Araus J.L., 1993. Effect of water stress on proline and nitrate content of barley relationships with osmotical potential, carbon isotope ratio and grain yield. Colloque Diversité génétique et amélioration variétale. Montpellier (France). *Les colloques*.64. (éd). Inra. Paris.

Bernards M.A., Fleming W.D., Llewellyn D.B., R Priefer, Yang X., Sabatino A., Plourde G.L., 1999. Biochemical Characterization of the Suberization-Associated Anionic Peroxidase of Potato. *Plant Physiology* 121(1): 135-146.

Bernier F., Berna A., 2001. Germins and germin-like proteins: Plant do-all proteins. But what do they do exactly? *Plant Physiology and Biochemistry* 39(7-8): 545-554.

Blechert S., Brodschelm W., Holder S., Kammerer L., Kutchan T.M., Mueller M.J., Xia Z., Zenk M.H., 1995. The Octadecanoic Pathway: Signal Molecules for the Regulation of Secondary Pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92(10): 4099-4105.

Blee E., 2002. Impact of phyto-oxylinins in plant defense. *Trends in Plant Science* 7(7): 315-322.

Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V., 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. *Annals of Botany* 91(2): 179-194.

Bokoch G.M., 1994. Regulation of the human neutrophil NADPH oxidase by the Rac GTP-binding proteins. *Current Opinion in Cell Biology* 6(2): 212-218.

Bolwell G.P., Wojtaszek P., 1997. Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defense - a broad perspective. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 51(6): 347-366.

Bolwell G.P., Bindschedler L.V., Blee K.A., Butt V.S., Davies D.R., Gardner S.L., Gerrish C., Minibayeva F., 2002. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system. *Journal of Experimental Botany* 53(372): 1367-1376.

Bousba R., Ykhlef N., Djekoun A., 2009. Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum Desf*). *World Journal of Agricultural Sciences* 5. 5: 609 -616.

Bouchelaghem S. Djebbar Berrebbah H. Djebbar M.R. 2001. The impact of dust emits by the steel complex of El Hadjar (ANNABA) on two biological models: Mousses and lichens. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(18), 3574-3578

Boveris A., Chance B., 1973. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochemical Journal* 134(3): 707-716.

Bowler C., Van Camp W., Van Montagu M., Inze D., 1994. Superoxide Dismutase in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 13(3): 199 - 199.

Bozzini A., 1988. Origin, distribution and production of durum wheat in the world. (éd). *Durum: Chemistry and Technology*. AACCC (Minnesota). Etats-Unis : 1-16 p.

Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method for quantisation of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein by binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.

Bramley P., Elmadfa I., Kafatos A., Kelly F., Manios Y., Roxborough H., Schuch W., Sheehy P., and Wagner K., 2000. "Vitamin E." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80(7): 913-938.

Brown D.H., White H., 1986. The effect of mercury on the physiology of *Rhytidialdelphus squarrosus* warnst. *University of Bristol J. Bryol.* 14 ; 367-374.

Buhl M.B., Stewart C.R., 1983. Effect of NaCl on proline synthesis and utilisation in excised barley leaves. *Plant Physiol.*, 72 : 664 – 667.

Cakmak, I., Horst, W.J., 1991. Effect of aliminium on lipid peroxidation, superxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiol. Plant* 83: 463-468.

Caliskan M., Cuming A.C., 1998. Spatial specificity of H₂O₂-generating oxalate oxidase gene expression during wheat embryo germination. *The Plant Journal* 15(2): 165-171.

Campalans A., Messegueur R., Goday A. Pagès M. 1999. Plant responses to drought, from ABA signal transduction events to the action of the induced proteins. *Plant Physiol. Biochem.* 37. 5: 327 - 340.

Canesi L., Viarengo A., 1997. Age-related differences in glutathione metabolism in mussel tissues. *Comp. Biochem. Physiol.*, 116B, 217-221.

Chagra A., Djebbar M.R., Rouabhi R., et Berrebbah H., 2009. Cadmium induced changes in metabolic function of mitochondrial isolated from potato tissue (*Solanum tuberosum* L.). *American journal of biotechnology*,

Chaib G., 1998. Teneur en proline chez les différents organes de blé dur (*Triticum durum* Desf). Essai d'explication des conditions d'accumulation sous manque d'eau. Thèse de Doctorat. Univ. Constantine.

Chakroun A., Jemmali A., Ben Hamed K., Abdelli C., Druart PH., 2007. Effet du nitrate d'ammonium sur le développement et l'activité des enzymes anti-oxydantes du fraisier (*Fragaria x ananassa* L.) micropropagé. *Biotechnologie, Agronomie*.11 (2):89-95.

Chen Z., Gallie D.R., 2004. The Ascorbic Acid Redox State Controls Guard Cell Signaling and Stomatal Movement. *Plant Cell* 16(5): 1143-1162.

Christie, N. T., Costa, M.,1984. *Biol. Trace Elem. Res.* 6. 139-158.

Chung H., Baek B., Song S., Kim M., Huh J., Shim K., Kim K., Lee K., 1997. Xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase and oxidative stress. *AGE* 20(3): 127-140.

Chugh L.K., Sawhney S.K., 1999. Photosynthetic activities of *Pisum sativum* seedlings grown in presence of cadmium. *Plant. Physiol. Biochem.*, 37 (4): 297-303.

Cillard J., Cillard P., 2006. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations." *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. 13(1): 24-29.

Clark J.M., Norvell W.A., Clark F.R., Buckley T.W., 2002. Concentration of cadmium and other elements in the grain of near-isogenic durum lines. *Can. J. Plant Sci./Revue canadienne de phytotechnie*. 82 : 27-33.

Cleland R.E., Grace S.C., 1999. Voltammetric detection of superoxide production by photosystem II. *FEBS Letters* 457(3): 348-352.

Clemens S., 2006a. Evolution and function of phytochelatase synthases." *Journal of Plant Physiology* 163(3): 319-332.

Clemens S., 2006b. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88(11): 1707-1719.

Clerc P., 2006. Etude des effets mitochondriaux du monoxyde d'azote: Régulation de l'oxydation phosphorylante et de la transition de perméabilité. Thèse Doctorat, Université Josef Fourier, 100-190.

Clifford, S. C., Arnat, S. K., Corlett, J. E, Joshi, S., Sankhla, N., Jones, H. G., 1998. The role of solute accumulation, osmotic adjustment and changes in cell wall elasticity in drought tolerance in *Ziziphus mauritiana*. *J. Exp.Bot.* 49: 967-977.

Clijsters, H., Cuypers, A., Vangronsveld, J., 1999. Physiological responses to heavy metals in higher plants; defence against oxidative stress, *Z. Naturforsch.* 54 c: 730-734.

Cœurduassier M., Saint-Denis M., Gomot-de Vaufleury A., Ribera D et Badot P.M., 2001. The garden snail (*Helix aspersa aspersa*) as bioindicator of organophosphorus exposure : Effects of dimethoate on survival growth and acetylcholinesterase activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 1951-1957.

Collin V.C., Eymery F., Genty B., Rey P., Havaux M., 2008. Vitamin E is essential for the tolerance of *Arabidopsis thaliana* to metal-induced oxidative stress. *Plant, Cell and Environment* 31(2):244-257.

Cona A., Moreno S., Cenci F., Federico R., Angelini R., 2005. Cellular re-distribution of flavincontaining polyamine oxidase in differentiating root and mesocotyl of *Zea mays* L. seedlings. *Planta* 221(2): 265-276.

Cona A., Rea G., Angelini R., Federico R., Tavladoraki P., 2006. Functions of amine oxidases in plant development and defence. *Trends in Plant Science* 11(2): 80-88.

Cornic G., Fresneau C., 2002. Photosynthetic carbon reduction and carbon oxidation cycles are the main electron sinks for photosystem II activity during a mild drought. *Ann. Bot.* 89: 887- 894.

Cornic G., Streb P., Bligny R., Aubert S., 2005. Thème 1 : Biochimie et physiologie métabolique des plantes alpines. 46 p.

Corpas F.J., De la Colina C., Sanchez-Rasero F., Del Rio L.A., 1997. A role for leaf peroxisomes in the catabolism of purines. *Journal of Plant Physiology* 151(2): 246-250.

Corpas F.J., Sandalio L.M., Del Rio L.A., Trelease RN., 1998. Copper-zinc superoxide dismutase is a constituent enzyme of the matrix of peroxisomes in the cotyledons of oilseed plants. *New Phytologist* 138(2): 307-314.

Corpas F.J., Barroso J.B., Del Río L.A., 2001. Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. *Trends in Plant Science* 6(4): 145-150.

Costa G., Michaut J.C., Morel J.L., 1994 . Influence of cadmium on water relations and gaze changes in phosphorus deficient *Lupinus albus*. *Plant Physiol. Biochem.*, 32 (1) : 105-114.

Crawford N.M. and Guo F.Q., 2005. "New insights into nitric oxide metabolism and regulatory functions." *Trends in Plant Science* 10(4): 195-200.

Croteau D.L., Bohr V.A., 1997. Repair of Oxidative Damage to Nuclear and Mitochondrial DNA in Mammalian Cells. *Journal of Biological Chemistry* 272(41): 25409-25412.

Cureton, P.M., Gaudet, C., Sheppard, S.C., Sheppard, M.I. et Wong, M.P. 1992. The Development of Assessment and Remediation Guidelines for Contaminated Soils, a Review of the Science *Canadian Journal of Soil Science* 72:359–394.

Djanaguiraman, M., Sheeba J.A, Shanker A.K., Devi D.D, Bangarusamy U., 2006. Rice can acclimate to lethal level of salinity by pretreatment with sublethal level of salinity through osmotic adjustment. *Plant Soil*, 284: 363-373.

Dagnelie P. ,1999 . Statistique théorique et appliquée. Tome2 : inférence statistique à une et à deux dimensions. Bruxelles-Université de Boeck et Larcier. 659.

Dat J., Vandenabeele S., Vranová E., Van Montagu E., Inzé D., Van Breusegem F., 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)* 57(5): 779-795.

David M.M., Coelho D., Bannote I., and Correia M. J., 1998. Leaf age effects on photosynthetic activity and sugar accumulation in droughted and rewatered *Lupinus albus* plants. *Aust. J. physiol* .25: 299-306.

Debaeke P., Cabelguenne M., Casals M.L., Puech J., 1996. Élaboration du rendement du blé d'hiver en conditions de déficit hydrique. II. Mise au point et test d'un modèle de simulation de la culture de blé d'hiver en conditions d'alimentation hydrique et azotée variées. *Epicphase-blé. Agronomie*.16: 25 - 46.

Déjardin A., Sokolov L.N. & Kleczkowski L.A. 1999 .Sugar/osmoticum levels modulate differential abscisic acid-independent expression of two stress-responsive sucrose synthesis genes in *Arabidopsis*. *Biochem J.* 344: 503 -509.

Del Río L.A., Sandalio L.M., Palma J., Bueno P., Corpas F.G., 1992. Metabolism of oxygen radicals in peroxisomes and cellular implications. *Free Radical Biology and Medicine* 13(5): 557-580.

Del Rio L.A., Pastori G.M., Palma J.M., Sandalio L.M., Sevilla F., Corpas F.J., Jimenez A., Lopez-Huertas E., Hernandez J.A., 1998. The Activated Oxygen Role of Peroxisomes in Senescence. *Plant Physiology* 116(4): 1195-1200.

Del Rio L.A., Sandalio L.M., Altomare D.A., Zilinskas B.A., 2003. Mitochondrial and peroxisomal manganese superoxide dismutase: differential expression during leaf senescence. *Journal of Experimental Botany* 54(384): 923-933.

Demmig-Adams B., Adams W.W., 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science* 1(1): 21-26.

Dietz K-J., 2007. The Dual Function of Plant Peroxiredoxins in Antioxidant Defence and Redox Signaling. *Peroxiredoxin Systems*: 267-294.

Dietz K-J, Jacob S., Oelze M-L., Laxa M., Tognetti V., de Miranda S.MN., Baier M. Finkemeier I., 2006. The function of peroxiredoxins in plant organelle redox metabolism. *Journal of Experimental Botany* 57(8): 1697-1709.

Disckinson D.A. et Forman, H.J., 2002. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochemical pharmacology*. 64 :1019-1026.

Djebar, M.R., Djebar, H., 2000. Bioénergétique, les mitochondries végétales. *Revue des Sciences et Technologies. Synthèse: publication de l'université d'Annaba. Edition Végator*: p103.

Djekoun A., Planchon C., 1991. Tolerance to leaf water potential in soybean genotypes. *Euphytica*. 55: 247 - 253.

Djenane, A.M. 1992. Quelques résultats du programme de la vulgarisation de l'intensification céréalière dans la région des Hautes Plaines Sétifiennes. Séminaire maghrébin *La vulgarisation agricole au Maghreb: théorie et pratique*, avril 1992. Alger.

Driouich A., Ouhssine M., Ouassou A., Bengueddour R., 2001 . Effet du NaCl sur l'activité du phosphoénol pyruvate carboxylase (PEPC) foliaire et son rôle sur la synthèse du malate et de la proline chez le blé dur (*Triticum durum Desf*). *Science Letters*, 3(3) : 123-128.

Droillard M-J., Paulin A., 1990. Isozymes of Superoxide Dismutase in Mitochondria and Peroxisomes Isolated from Petals of Carnation (*Dianthus caryophyllus*) during Senescence. *Plant Physiology* 94(3): 1187-1192.

Dubois C. 2005. Réponse moléculaire de jeunes plants de pin maritime soumis à un stress hydrique en milieu hydroponique. Thèse de doctorat. Univ. Henri Poincaré, Nancy-I. France.

Duke M.V., Salin M.L., 1983. Isoenzymes of cuprozinc superoxide dismutase from *Pisum sativum*. *Phytochemistry* 22(11): 2369-2373.

Dumas B, Freyssinet G., Pallett K.E., 1995. Tissue-Specific Expression of Germin-Like Oxalate Oxidase during Development and Fungal Infection of Barley Seedlings. *Plant Physiology* 107(4): 1091-1096.

Edreva A., 2005. Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 106(2-3): 119-133.

El-Iklil Y., Karrou M., Mrabet R., et Benichou M., 2002. Effet du stress salin sur la variation de certains métabolites chez *Lycopersicon sheesmanii*. *Can. J. Plant Sci.* 82 : 177-183.

Epron D., Toussat M.L. and Badot P.M., 1999. Effect of sodium chloride salinity on root growth and respiration in oak seedlings. *Ann. For. Sci.* 56: 41-47.

Ernez M. Lannoye R., 1991. Quantification des désordres photosynthétiques chez la plante stressée: aspects conceptuels et méthodologiques, L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris : 9-23.

Fang T.K., Donaldson R.P., Vigil E.L., 1987. Electron transport in purified glyoxysomal membranes from castor-bean endosperm. *Planta* 172(1): 1-13.

FAO, 2003. Statistical database. <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>.

FAO. 2005 : Tendances actuelles du marché mondial des engrais et perspectives jusqu'en 2009/10. 60 p.

Farmer E.E., Almeras E., and Krishnamurthy V., 2003. Jasmonates and related oxylipins in plant responses to pathogenesis and herbivory. *Current Opinion in Plant Biology* 6(4): 372-378.

Favier A., 2003. Analysis of free radicals in biological systems. Birkhauser. New York.

Federico R., Angelini R., 1991. Polyamine catabolism in plants. *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. R. D. Slocum and H. E. Flores, CRC Press: 41-56.

Fedina I., Georgieva K., Velitchkova M., Grigorova I., 2006. Effect of pre-treatment of barley seedlings with different salts on the level of UV-B induced and UV-B absorbing compounds. *Environ. Exp. Bot.* 56, 225-230.

Fedoroff N., 2006. Redox Regulatory Mechanisms in Cellular Stress Responses. *Annals of Botany* 98(2): 289-300.

Feillet P., 2000. Le grain de blé : composition et utilisation. *INRA*. Paris.

Feldman M. 1976. Taxonomic Classification and Names of Wild, Primitive, Cultivated, and Modern Cultivated Wheats. Dans : Simmonds, N.W. (éd)., *Evolution of Crop Plants*. Longman, Londres: 120-128.

Feldman M. 2001. Origin of Cultivated Wheat. *The World Wheat Book: a history of wheat breeding*. Intercept Limited. Andover. Angleterre : 3-58.

Foerster E., Fahrenkemper T., Rabe U., Graf P., Sies H., 1981. Peroxisomal fatty acid oxidation as detected by H₂O₂ production in intact perfused rat liver. *Biochemistry Journal* 196(3): 705-712.

Foot C., Valentine J., Greenberg A., Liebman J., 1985. Active Oxygen in Chemistry. New York, Chapman and Hall. Foy CD, RL Chaney and MC White (1978). "The Physiology of Metal Toxicity in Plants." *Annual Review of Plant Physiology* 29(1): 511-566.

Foyer C., 2007. Redox metabolism in plants and its role in programmed cell death and senescence." *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 146(4, Supplement 1): S53.

Foyer C.H., Lelandais M., Kunert K.J., 1994. Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum* 92(4): 696-717.

Foyer C.H., Noctor G., 2000. Tansley Review No. 112. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. *New Phytologist* 146(3): 359-388.

Foyer C.H., Theodoulou F.L., Delrot S., 2001. The functions of inter- and intracellular glutathione transport systems in plants. *Trends in Plant Science* 6(10): 486-492.

Foyer C.H., Noctor G., 2003. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum* 119: 355-364.

Foyer C.H., Noctor G., 2005a. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context." *Plant, Cell and Environment* 28: 1056-1071.

Foyer C.H., Noctor G., 2005b. Redox Homeostasis and Antioxidant Signaling: A Metabolic Interface between Stress Perception and Physiological Responses. *Plant Cell* 17(7): 1866- 1875.

Fraisse L., 1993. Etude du rôle des mitochondries dans la production d'espèces oxygénées réactives en situation de stress oxydatif. Mise au point et propriétés de nouveaux composés protecteurs des membranes biologiques contre la peroxydation lipidique. *INSA Toulouse, INSAT*: 155pp.

Fryer M.J., 1992. The antioxidant effects of thylakoid Vitamin E (alpha-tocopherol). *Plant, Cell and Environment* 15(4): 381-392.

Fulkerson Brekken J., Brezonik P. L., 1998. *Chemosphere*, 36: 2699-2704.

Gallego S.M., Benavides M.P., Tomaro M.L., 2002. Effect of heavy Metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of an oxidative stress. *Plant Science* (121): 151- 159.

Garnier L., Simon-Plas F., Oise, Thuleau P. , Agnel J-P, Blein J-P, Ranjeva R, Montillet J-L., 2006. Cadmium affects tobacco cells by a series of three waves of reactive oxygen species that contribute to cytotoxicity. *Plant, Cell and Environment* 29: 1956-1969.

Gate P., Bouthier A., Casabianca H., Deleens E., 1993. Caractères physiologiques décrivant la tolérance à la sécheresse des blés cultivés en France : interprétation des corrélations entre le rendement et la composition isotopique du carbone des grains. Colloque Diversité génétique et amélioration variétale Montpellier (France). *Les colloques*. 64. *Inra* . Paris.

Geigenberger P., Reimholz R., Geiger M., Merlo L., Canale V., Stitt M ., 1997. Resolution of sucrose and starch metabolism in potato tubers in response to short-term water deficit. *Planta*. 201: 502 -518.

Giardi M.T., Cona A.B., Geiken T., Kucera J., Masojídek A.K., Matto O., 1996. Longterm drought stress induces structural and functional reorganization of Photosystem II. *Planta*. 199: 118-125.

Gonzalez A., Martin I., Ayerbe L., 1999. Barley yield in water stress conditions. The influence of precocity, osmotic adjustment and stomatal conductance. *Field Crop Res* .(62): 23 - 34 .

Grara N, Ataillia A., Boucenna M., Berrebbah H., Djebbar M.R.2012. Toxicity of metal dust from Annaba steel complex (Eastern Algeria) on the morpho-physiological parameters of the snail *Helix aspersa*. *Advanced in biology and environnement*. 605-611.

Grill E., Löffler S., Winnacker E-L., Zenk M.H., 1989. Phytochelatins, the Heavy-Metal-Binding Peptides of Plants, are Synthesized from Glutathione by a Specific gamma – glutamylcysteine Dipeptidyl Transpeptidase (Phytochelatase Synthase). *Proceedings of the National Academy of Sciences* 86(18): 6838-6842.

Grollman A.P., Moriya M., 1993. Mutagenesis by 8-oxoguanine: an enemy within. *Trends in Genetics* 9(7): 246-249.

Guettouche R., 1990. Contribution à l'identification des caractères morpho physiologiques d'adaptation à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum Desf*). Thèse diplôme d'Agronomie approfondie.

Gyuris J., Golemis E., Chertkov H., Brent R., 1993. Cdi1, a human G1 and S phase protein phosphatase that associates with Cdk2. *Cell* 75(4): 791-803.

Habig W.H., Pabst M.J, Jakoby W.B., 1974. Glutathion S-Transferases. The First enzymatic step in mercapturic acid formation. *The journal of Biological Chemistry* 249: 7130-7139.

Haddad S., 2001. Contribution à l'étude de l'influence du nitrate du plomb sur les paramètres physiologiques et biochimiques du blé (*Triticum durum*) : thèse de magistère. Dept de Biologie. Université Annaba 128 pages.

Halliwell B., 2006. "Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life." *Plant Physiology* 141(2): 312-322.

Halliwell B., Gutteridge J., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford, Clarendon Press: 188-275.

Halliwell B., Whiteman M., 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Brazilian Journal of Pharmacology* 142(2): 231-255.

Hanson A.D., Nelson C.E., Everson E.H., 1977. Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars. *Crop Sci.*, 17: 720-726.

Hao F., Zhang J., Yu Z., Chen J., 2008. "Involvement of NADPH oxidase NtrbohD in the rapid production of H₂O₂ induced by ABA in cultured tobacco cell line BY-2." *Progress in Natural Science* 18(3): 267-271.

Hare P.D., Cress W.A., 1997. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant cell and environment*. 21: 535 - 553.

Heckman J. R., Angle J.S., Chaney R.L., 1987. Residual effects of sewage sludge on soybean:II. Accumulation of heavy metals. *J. Environ. Qual*, 16(2): 113-117.

Heitholt J.J., Johnson D.M., Ferris L., 1991. Stomatal limitation to carbon dioxide assimilation in nitrogen-and drought-stressed wheat. *Crop Sci.* 31: 135 -139 p.

Hellman H., Funck D., Rentsch D., Frommer W.B., 2000. Hypersensitivity of an arabidopsis sugar signaling mutant toward exogenous proline application. *Plant Physiology* 122, 357-367.

Hernandez S., Deleu C., Larher F. 2000. Accumulation de proline dans les tissus foliaire de tomates en réponse à la salinité. *Life Science*, 323: 551-557.

Hernandez J.A., Campillo A., Jimenez A., Alarcon J.J., Sevilla F., 1999. Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. *New Phytologist* 141(2): 241-251.

Herschbach C., Rennenberg H., 1991. Influence of Glutathione (GSH) on Sulphate Influx, Xylem Loading and Exudation in Excised Tobacco Roots. *Journal of Experimental Botany* 42(8): 1021-1029.

Hippeli S., Heiser I., Elstner E.F., 1999. Activated oxygen and free oxygen radicals in pathology: New insights and analogies between animals and plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 37(3): 167-178.

Hiraga S., Yamamoto K., Ito H., Sasaki K., Matsui H., Honma M., Nagamura Y., Sasaki T., Ohashi Y., 2000. Diverse expression profiles of 21 rice peroxidase genes. *FEBS Letters* 471(2-3): 245-250.

Hiraga S., Sasaki K., Ito H., Ohashi Y., Matsui H., 2001. A Large Family of Class III Plant Peroxidases. *Plant Cell and Physiology* 42(5): 462-468.

Hiscot J.D, Israelstam G.F., 1978. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration, *DIV. life Science, University of Toronto*; 1332-1334.

Horemans N., Foyer C. H., Potters G., Asard H., 2000. Ascorbate function and associated transport systems in plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 38(7-8): 531-540.

Hsissou D., 1994. Sélection *In vitro* et caractérisation de mutants de blé dur tolérants à la sécheresse. Thèse de doctorat. Univ. Catholique de Louvain.

Hurkman W.J., Tanaka C.K., 1996. Germin Gene Expression Is Induced in Wheat Leaves by Powdery Mildew Infection. *Plant Physiology* 111(3): 735-739.

INVA-ITGC. 1997. La fertilisation du blé.

Inze D., Montagu M.V., 2001. Oxidative Stress in Plants, CRC.

ITCMI. 1995. Guide pratique: la culture de la tomate sous serre.

Joo J.H., Bae Y.S. Lee J.S., 2001. Role of Auxin-Induced Reactive Oxygen Species in Root Gravitropism. *Plant Physiology* 126(3): 1055-1060.

Kameli A. et Losel D.M., 1995. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *J. Plant Physiol.* 145: 363-366.

Kaur J, Duffus C., 1989. The effect of naf on cereal seed germination and seedling growth. *Plant Cell and environnement.* 12 :154-161.

Khaldi Fadila, Djebbar Houria, Rouabhi Rachid and Djebbar Mohammed Reda,2009. Cellular Response of a Pollution Bioindicator Model (*Ramalina farinacea*) Following Treatment with Fertilizer (NPKs) *American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences* 1 (2): 69-73.

Kramell R., Miersch O., Atzorn R., Parthier B., Wasternack C., 2000. Octadecanoid-Derived Alteration of Gene Expression and the Oxylipin Signature in Stressed Barley Leaves. Implications for Different Signaling Pathways." *Plant Physiology* 123(1): 177-188.

Kavi Kishor P. B., Sangam S., Amrutha R. N., Sri Laxmi P., Naidu K. R., Rao K. R. S. S., Rao S., Reddy K. J., Theriappan P. and Sreenivasulu N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Science*, 88(3) : 424-438.

Kawano T., 2003. Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. *Plant Cell Reports* 21(9): 829-837.

Kawano T., Muto S., 2000. Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid-induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture. *Journal of Experimental Botany* 51(345): 685-693.

Kelly J.M., Parker G.R. and Mcfee W.W., 1979. Heavy metal accumulation and growth of seedling of five species as influenced by soil cadmium level. J. Environ. Qual, 8(3): 361-364.

Kimber G., Sears E.R., 1987. Evolution in the Genus *Triticum* and the Origin of Cultivated Wheat. Ed. Wheat and Wheat Improvement. American Society of Agronomy, Madison : 31p.

Kiss, S.A., Varga, I.S., Galbacs, Z., Maria, T.H., Csikkel-Szolnoki, A. , 2003 : Effect of age an magnesium supply on the free radical and antioxydant content of plants. Acta Biologica Szegediensis, Vol.47 (1-4), pp, 127-130.

Krause G.H., Weis E., 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Ann. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. (42): 313 -349.

Krieger-Liszkay A., Trebst A., 2006. Tocopherol is the scavenger of singlet oxygen produced by the triplet states of chlorophyll in the PSII reaction centre. Journal of Experimental Botany 57(8): 1677-1684.

Kumar G., Iyer S., Knowles N., 2007. Strboh A homologue of NADPH oxidase regulates woundinduced oxidative burst and facilitates wound-healing in potato tubers. Planta 227(1): 25-36.

Kuciel, R., Mazurkiewicz, A., 2004: Formation and Detoxification of reactive oxygen species.Biochemistry and Molecular Biology Education, Vol.323, pp, 183-186.

Lafon J.P, Tharaud-Prayer C., Levy G. ; 1988. Biologie des plantes cultivées. Organisation, physiologie de la nutrition. Paris : Technique et Documentation Lavoisier.1 : 103-124.

Laloi C., Apel K., Danon A., 2004. Reactive oxygen signalling: the latest news. Current Opinion in Plant Biology 7(3): 323-328.

Lambeth J.D., 2004. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. Nature Reviews Immunology 4(3): 181-189.

Lane B.G., 2000. Oxalate oxidases and differentiating surface structure in wheat: germins. Biochemistry Journal 349(1): 309-321.

Lane S. D., Mrtin E.S., Garrod J.P., 1978. Lead toxicity effect on indole-3- acetic-induced cell elongation. Planta, 144: 79-84.

Langebartels C., Wohlgemuth H., Kschieschan S., Grün S., Sandermann H., 2002. Oxidative burst and cell death in ozone-exposed plants. Plant Physiology and Biochemistry 40(6-8): 567-575.

Lappartient A.G., Touraine B., 1996. Demand-Driven Control of Root ATP Sulfurylase Activity and SO₄²⁻ Uptake in Intact Canola (The Role of Phloem-Translocated Glutathione). Plant Physiology 111(1): 147-157.

Laurent B., Ahmed B., 1991. La germination des semences en conditions sèche. Science et changement planétaire. Sécheresse.2 (4): 239-249.

Laurenzi M., Tipping A., Marcus S., Knox P., Federico R., Angelini R., McPherson M., 2001. Analysis of the distribution of copper amine oxidase in cell walls of legume seedlings."Planta 214(1): 37-45.

Lawton L.J, Donaldson W.E., 1991. Lead-induced tissue fatty acid alterations and lipid peroxidation. Biol Trace Elem Res 28:83–97.

Leprince A.S., Lefebvre D., Ghars M.A. , Parre E., Thiery L., Bordenave M., Richard L. and Savouré A., 2004. Signalling pathways involved in proline metabolism regulation under hyperosmotic stress in *Arabidopsis thaliana*. Bull, biot.134: 69-74.

Lesgards J. F., 2000. Contribution à la détermination du statut antioxydant chez l'homme. Thèse de doctorat Chimie Biochimie. Université d'Aix-Marseille

Levine A., Tenhaken R., Dixon R., Lamb C., 1994. H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. Cell 79(4): 583-593.

Levigneron A., Lopez F., Varisuyt G., Berthomien P., Casse-Delbar T., 1995. Les plantes face au stress salin. Cahier d'Agriculture. 4 : 263-273.

Lev-Yadun S., Gopher A., Abbo S. 2000. The cradle of agriculture. *Science*. 288 : 1602-1603.

Liszkay A, Kenk B., Schopfer P., 2003. Evidence for the involvement of cell wall peroxidase in the generation of hydroxyl radicals mediating extension growth. Planta 217(4): 658-667.

Loeb L.A., Wallace D.C., Martin G.M., 2005. The mitochondrial theory of aging and its relationship to reactive oxygen species damage and somatic mtDNA mutations. Proceedings of the National Academy of Sciences 102(52): 18769-18770.

Loggini N., 1999 : 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.

Lopez-Huertas E., Sandalio L.M., Ñomez M.G., Del Rio L., 1997. Superoxide Radical Generation in Peroxisomal Membranes: Evidence for the Participation of the 18-kDa Integral Membrane Polypeptide. Free Radical Research 26(6): 497 - 506.

Low P.S., Merida J.R., 1996. The oxidative burst in plant defense: Function and signal transduction. Physiologia Plantarum 96(3): 533-542.

Luna C. M., Gonzalez C.A., Trippi V.S., 1994. Oxidative damage caused by excess of copper in oat leaves. Plant Cell Physiol., 35: 11-15.

Lynch M.P., Faustman C., Silbart L.K., Rood D., Furr H.C., 2001. Detection of Lipid-Derived Aldehydes and Aldehyde:Protein Adducts In Vitro and in Beef." *Journal of Food Science* 66(8): 1093-1099.

Madhava Rao K.V., Raghavendra A.S., Janardhan Reddy K., 2006 . Printed in the Netherlands. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. Springer:* 1-14.

Maksymiec W., Krupa Z., 2006. The effects of short-term exposition to Cd, excess Cu ions and jasmonate on oxidative stress appearing in *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany* 57(1-2): 187-194.

Maksymiec W., Wójcik M., Krupa Z., 2007. Variation in oxidative stress and photochemical activity in *Arabidopsis thaliana* leaves subjected to cadmium and excess copper in the presence or absence of jasmonate and ascorbate." *Chemosphere* 66(3): 421-427.

Mamdouh M, Nemat A, Nemat M H, 2007. Change of antioxidants and GSH-associated enzymes in isoproturon-treated maize. *Acta Physiol Plant.* 29 :247-258.

Marco M. Marco A., Quilchano C. Andrew R. B., 1999. Sensitivity to nitrate and nitrite in pond-breeding amphibians from the pacific northwest, Usa. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18:2836–2839.

Maroti M., Bogнар J., 1991. Effect of toxic metals inhibiting the growth of plant cellus tissues. *Acta Agronomica Hungaria*, 40: 39-47.

Marrs K.A., 1996. The functions and regulation of glutathione S-transferases in plants *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47(1): 127-158.

Massantini F., Fauili R., Magnani G. and Oggiano N., 1990. Soils culture, biotechnology for high quality vegetables, 4 (2): 27-39.

Matsumura T. Tabayashi N., Kamagata Y., Souma C., Saruyama H., 2002. Wheat catalase expressed in transgenic rice can improve tolerance against low temperature stress. *Physiol. Plant.*, 116, 317-327.

Maxwell D.P., Wang Y., McIntosh L., 1999. The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96(14): 8271-8276.

May M., Vernoux T., Leaver C., Van Montagu M., Inze D. 1998. Review article. Glutathione homeostasis in plants: implications for environmental sensing and plant development. *Journal of Experimental Botany* 49(321): 649-667.

Mazurkiewicz K., Zapałowicz A., Janowicz K. 2004. Influence of saprophytic microorganisms and *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Skarbilovich, 1959 on physiological processes of tomato (*Solanum lycopersicum*). Archives Of Phytopathology And Plant Protection. 33: 25-30.

Medrano H., Escalono J.M., Cifre J. Bota J., Flexas J., 2003. A ten year study of the physiology of two Spanish grapevine cultivars under field conditions : effect of water availability from leaf photosynthesis to grape yield and quality. Functional plant Biology. 30 :607-619.

Mefti M., Abdelguerfi A. et Chebouti A., 1998. Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques populations de *Medicago truncatula* (L.) Gaertn. Science (5) : 173-176.

Mehler A., 1951. Studies on reactions of illuminated chloroplasts. I. Mechanism of the reduction of oxygen and other Hill reagents. Archives of Biochemistry 33(1): 65-77.

Mehlhorn H., Lelandais M., Korth H.G., Foyer C.H., 1996. Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases. FEBS Letters 378(3): 203-206.

Merigout P., 2006. Étude du métabolisme de la plante en réponse à l'apport de différents fertilisants et adjuvants culturaux. Influence des phytohormones sur le métabolisme azoté. Thèse de Doctorat ; Institut National Agronomique Paris-Grignon. 110p.

Meyer A., Hell R., 2005. Glutathione homeostasis and redox-regulation by sulfhydryl groups. Photosynthesis Research 86(3): 435-457.

Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S., 2004. Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. Phytochemistry Reviews 3(1): 173-193.

Miller N.J., Sampson J., Candeias L.P., Bramley P.M., Rice-Evans C.A., 1996. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. FEBS Letters 384(3): 240-242.

Mittler R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7(9): 405-410.

Mittler R., Merquiol E., Hallak-Herr E., Rachmilevitch S., Kaplan A., Cohen M., 2001. Living under a 'dormant' canopy: a molecular acclimation mechanism of the desert plant *Retama raetam*. The Plant Journal 25(4): 407-416.

Mittler R., Vanderauwra S., Gollery M. Van Broseghem F., 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Trends Plant Sci. 9: 490-498.

Miyake C., Asada K., 1994. Ferredoxin-Dependent Photoreduction of the Monodehydroascorbate Radical in Spinach Thylakoids. Plant Cell Physiol. 35(4): 539-549.

Moller I.M., 2001. Plant mitochondria and oxidative stress: Electron Transport, NADPH Turnover, and Metabolism of Reactive Oxygen Species. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52(1): 561-591.

Monneveux P.H, Nemmar M., 1986. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum*) et chez le blé (*Triticum durum* Desf) : étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie* 6 : (583-590).

Monneveux P. 1991. Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver. In : *l'amélioration des plantes pour l'adaptation au milieu arides*. (éd). *Aupelf-Uref. J. Eurotxt.L.* Paris: 165 -186.

Moran J.F., James E.K., Rubio M.C., Sarath G., Klucas R.V., Becana M., 2003. Functional Characterization and Expression of a Cytosolic Iron-Superoxide Dismutase from Cowpea Root Nodules. *Plant Physiology* 133(2): 773-782.

Moustakas M., Lanaras T., Symeonidis L., Karataglis S., 1997. "Growth and some photosynthetic characteristics of field grown *Avena sativa* under copper and lead stress." *Photosynthetica* 30: 389-396.

Mozzo M., Dall'Osto L., Hienerwadel R., Bassi R., Croce R., 2008. Photoprotection in the Antenna Complexes of Photosystem II: Role of individual xanthophylls in chlorophyll triplet quenching. *Journal of Biological Chemistry* 283(10): 6184-6192.

Mullineaux P.M., Karpinski S., Jimenez A., Cleary S.P., Robinson C., Creissen G.P. ,1998. Identification of cDNAs encoding plastid-targeted glutathione peroxidase. *The Plant Journal* 13(3): 375-379.

Nakano Y., 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.

Navas P., Villalba J., Córdoba F., 1994. Ascorbate function at the plasma membrane. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes* 1197(1): 1-13.

Navrot N., Collin V., Gualberto J., Gelhaye E., Hirasawa M., Rey P., Knaff D.B., Issakidis E., Jacquot J-P. Rouhier N., 2006. Plant Glutathione Peroxidases Are Functional Peroxiredoxins Distributed in Several Subcellular Compartments and Regulated during Biotic and Abiotic Stresses. *Plant Physiology* 142(4): 1364-1379.

Niedernhofer L.J., Daniels J.S., Rouzer C.A., Greene R.E., Marnett L.J., 2003. Malondialdehyde, a Product of Lipid Peroxidation, Is Mutagenic in Human Cells. *Journal of Biological Chemistry* 278(33): 31426-31433.

Niyogi K., 1999. Photoprotection revisited: Genetic and Molecular Approaches. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50(1): 333-359.

Njus D., Kelley PM., 1991. Vitamins C and E donate single hydrogen atoms in vivo. *FEBS Letters* 284(2): 147-151.

Noctor G., 2006. Metabolic signalling in defence and stress: the central roles of soluble redox couples. *Plant, Cell and Environment* 29: 409-425.

Noctor G., Arisi A., Jouanin L., Kunert K., Rennenberg H., Foyer C., 1998. Review article. Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. *Journal of Experimental Botany* 49(321): 623-647.

Noctor G., De Paepe R., Foyer C.H., 2007. Mitochondrial redox biology and homeostasis in plants. *Trends in Plant Science* 12(3): 125-134.

Nyathi Y., Baker A., 2006. Plant peroxisomes as a source of signalling molecules. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1763(12): 1478-1495.

Ober S., Sharp P., 1994. Polyphasic chlorophyll fluorescence transients in plants and cyanobacteria. *Photosynthesis research*. 29: 147 -150.

Ogawa K.I., Kanematsu S., Takabe K., Asada K., 1995. Attachment of CuZn-Superoxide Dismutase to Thylakoid Membranes at the Site of Superoxide Generation (PSI) in Spinach Chloroplasts: Detection by Immuno-Gold Labeling After Rapid Freezing and Substitution Method." *Plant Cell and Physiology* 36(4): 565-573.

Ogawa K.i., Kanematsu S., Asada K., 1996. Intra- and Extra-Cellular Localization of "Cytosolic" CuZn-Superoxide Dismutase in Spinach Leaf and Hypocotyl. *Plant Cell and Physiology* 37(6): 790-799.

Olmos E., Martinez-Solano J.R., Piqueras P., Hellin E., 2003. Early steps in the oxidative burst induced by cadmium in cultured tobacco cells (BY-2 line). *Journal of Experimental Botany* 54 (381): 291-301.

Orozco-Cardenas M.L., Narvaez-Vasquez J. Ryan C.A., 2001. Hydrogen Peroxide Acts as a Second Messenger for the Induction of Defense Genes in Tomato Plants in Response to Wounding, Systemin, and Methyl Jasmonate. *Plant Cell* 13(1): 179-191.

Ortiz M.O., Santaliestra S., Marco A., Fernández M.J., Lizana M., 2004. Impact of ammonium nitrate on growth and survival of six european amphibians. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47:234–239.

Osmond C.B., 1994. What is photo inhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. *BIOS. Scientific Publishers. Oxford* : 1-24.

Ouzounidou G., Eleftheriou E. P., Karataglis S., 1992. Ecophysiological and ultrastructural effects of copper in *Thlaspi ochroleucum* (cruciferae). *Can. J. Bot.* 70: 947-959.

Padmaja K., Passad D. D. K. and Prasad A.R. K., 1990. Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. Seedlings by cadmium acetate. *Photosynthetica*, 24: 399-405.

Panda S. K., 2003. Heavy-metal phytotoxicity induces oxidative stress in a moss, *Taxithellium* sp. *Science*. 84(5), 10: 631-633.

Pandolfini T., Gabrielli R and Comparini E., 1992. Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *triticum aestivum* L. *Plant. Cell and Environ.*, 15: 719-725.

Paschalidis K.A., Roubelakis-Angelakis K.A., 2005. Sites and Regulation of Polyamine Catabolism in the Tobacco Plant. Correlations with Cell Division/Expansion, Cell Cycle Progression, and Vascular Development. *Plant Physiology* 138(4): 2174-2184.

Passardi F., Longet D., Penel C. and Dunand C., 2004a . The class III peroxidase multigenic family in rice and its evolution in land plants. *Phytochemistry* 65(13): 1879-1893.

Passardi F., Penel C., Dunand C., 2004b. Performing the paradoxical: how plant peroxidases modify the cell wall. *Trends in Plant Science* 9(11): 534-540.

Passardi F., Cosio C., Penel C., Dunand C., 2005. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports* 24(5): 255-265.

Passioura J.B, 1996. Drought and drought tolerance. Review plant growth regulation. 20:79-83.

Pastori G.M., Foyer C.H., 2002. Common Components, Networks, and Pathways of Cross-Tolerance to Stress. The Central Role of "Redox" and Absciscic Acid-Mediated Controls. *Plant Physiology* 129(2): 460-468.

Patakas A., Noitsakis B., 1999. Mechanisms involved in diurnal changes of osmotic potential in grapevines under drought condition. *Journal of plant physiology*. 154 : 767-774.

Pei Z-M., Murata Y., Benning G., Thomine S., Klusener B., Allen G.J., Grill E., Schroeder J.I., 2000. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature* 406(6797): 731-734.

Pena-Ahumada A., Kahmann U., Dietz K-J., Baier M., 2006. Regulation of peroxiredoxin expression versus expression of Halliwell-Asada-Cycle enzymes during early seedling development of *Arabidopsis thaliana*. *Photosynthesis Research* 89(2): 99-112.

Persia 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. 159p.

Pietrangeli P., Federico R., Mondovi B., Morpurgo L., 2007. Substrate specificity of coppercontaining plant amine oxidases. *Journal of Inorganic Biochemistry* 101(7): 997-1004.

Pignocchi C., Foyer C.H., 2003. Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signalling. *Current Opinion in Plant Biology* 6(4): 379-389.

Pinz K.G., Shibutani S. Bogenhagen D.F., 1995. Action of Mitochondrial DNA Polymerase gamma at Sites of Base Loss or Oxidative Damage. *Journal of Biological Chemistry* 270(16): 9202-9206.

Pitzschke A., Forzani C., Hirt H., 2006. Reactive oxygen species signaling in plants. *Antioxidant Redox Signal* 8(9-10): 1757-64.

Poirier Y., Antonenkov V.D., Glumoff T., Hiltunen J.K., 2006. Peroxisomal β -oxidation –A metabolic pathway with multiple functions. *Molecular Cell Research* 176(12): 1413-1426.

Poorter H., 1989. Interspecific variation in relative growth rate: on ecological consequences. In: *Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants.*

Potters G, De Gara L., Asard H., Horemans N., 2002. Ascorbate and glutathione: guardians of the cell cycle, partners in crime? *Plant Physiology and Biochemistry* 40(6-8): 537-548.

Rabe R., Kreeb K.H., 1979. Enzyme activities and chlorophyll and protein content in plants as indicator of air pollution. *Environnemental pollution*, 19; 119-137.

Radic S, Babic M, Skobic D, Roje V, Pevalek-Kozlina B, 2009. Ecotoxicologicaleffectsof aluminumandzincongrowthandantioxidants in *Lemna minor* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 10 : 1-4.

Ramade, F., 1995. *Eléments d'écologie : écologie appliquée. 5^e édition.* ·Paris : Ediscience international.

Rao D.N., and Le blanc B.F., 1965. Effects of sulfur dioxide on the Lichens alga, with reference to chlorophyll. *Bryologie*, 69; 69-75.

Razem F.A., Bernards M.A., 2003. Reactive oxygen species production in association with suberization: evidence for an NADPH-dependent oxidase. *J. Exp. Bot.* 54(384): 935-941.

Rea G., Laurenzi M., Tranquilli E., D'Ovidio R., Federico R., Angelini R., 1998. Developmentally and wound-regulated expression of the gene encoding a cell wall copper amine oxidase in chickpea seedlings. *FEBS Letters* 437(3): 177-182.

Reichman S.M., 2002. The Responses of Plants to Metal Toxicity: A review focusing on Copper, Manganese and Zinc. *The Australian Minerals & Energy Environment Foundation*.157pp.

Regolin F., Principato G., 1995. Glutathione. Glutathione dependant and antioxidant enzymes in mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to metal under field and laboratory condition. Implication for the biomarkers. *Aquatic Toxicologie*. 31 : 143-164.

Rhoads D.M., Umbach A.L., Subbaiah C.C., Siedow J.N., 2006. Mitochondrial Reactive Oxygen Species. Contribution to Oxidative Stress and Interorganellar Signaling. *Plant Physiology* 141(2): 357-366.

Rhode D., Handa S., 1989. Amino acid metabolism in relation to osmotic adjustment in plant cells. In *Environmental Stress in Plants: Biochemical Mechanism*, NATO ASI Series, Vol. G 19 (JH Cherry. Ed. Springer, Berlin, 41-62.

Rodrigues M.L. Chave M.M. Wendler R. Davide M.M. Quick W.P, Leegood R.C. Stiit M. Pereira J.S., 1993. Osmotic ajustement in water stressed grapevine leaves in relation to carbone assimilation. *Australian. Journal of plant physiology*. 20: 309-321.

Rodriguez-Serrano M., Romero-Puertas M.C., Pastori G.M., Corpas F.J., Sandalio L.M., Del Rio L.A., PalmaJ.M., 2007. Peroxisomal membrane manganese superoxide dismutase: characterization of the isozyme from watermelon (*Citrullus lanatus* Schrad.) cotyledons. *Journal of Experimental Botany* doi:10.1093/jxb/erm095.

Romero-Puertas M.C., Rodriguez-Serrano M., Corpas F.J., Gomez M., Del Rio L.A., Sandalio L.M., 2004. Cadmium-induced subcellular accumulation of O₂·- and H₂O₂ in pea leaves. *Plant, Cell and Environment* 27(9): 1122-1134.

Rouhier N., Jacquot J-P., 2002. Plant peroxiredoxins: alternative hydroperoxide scavenging enzymes. *Photosynthesis Research* 74(3): 259-268.

Russo F., Brennan E., 1979. Phytotoxicity and distribution of cadmium in Pin oak seedlings determined by mode entry. *Forest sci.*, 25 (2), 328-332.

Sairam R.K. & Srivastava G.C., 2001. Water stress of wheat (*Triticum aestivum* L.): variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. *J. Agronomy& Crop Science*, 186, 63-70.

Sagi M., Fluhr R., 2001. Superoxide Production by Plant Homologues of the gp91phox NADPH Oxidase. Modulation of Activity by Calcium and by Tobacco Mosaic Virus Infection. *Plant Physiology* 126(3): 1281-1290.

Sagi M., Fluhr R., 2006. Production of Reactive Oxygen Species by Plant NADPH Oxidases. *Plant Physiology* 141(2): 336-340.

Salin M.L, 1988. Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast. *Physiologia Plantarum* 72(3): 681-689.

Samaras Y., Bresson R.A., Csonka L.N., Garcia-Rios M.G., Paino D'Urzo M. & Rhodes D. 1995. Proline accumulation during drought and salinity. Environment and plant metabolism, flexibility and acclimation. Oxford BIOS.161: 79- 88.

Sanchez F. J., Manzanares M. D.E. Andres E. F., Tenorio J. L., Schellenbaum L., Sprenger N., Schuepp H., Wiemken A., Boller T., 1999. Effects of drought, transgenic expression of a fructan synthesizing enzyme and of mycorrhizal symbiosis on growth and soluble carbohydrate pools in tobacco plants. New phytol. 142: 67-77.

Sandalio L.M., Del Rio L.A., 1988. Intraorganellar Distribution of Superoxide Dismutase in Plant Peroxisomes (Glyoxysomes and Leaf Peroxisomes). Plant Physiology 88(4): 1215-1218.

Sandalio L.M., Fernandez V.M., Ruperez F.L., Del Rio L.A., 1988. Superoxide Free Radicals Are Produced in Glyoxysomes. Plant Physiology 87(1): 1-4.

Sandalio L.M., LÃ³pez-Huertas E., Bueno P., RÃ³o LAD., 1997. Immunocytochemical Localization of Copper, Zinc Superoxide Dismutase in Peroxisomes from Watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad.) Cotyledons. Free Radical Research 26(3): 187 - 194.

Sauer P., Frébortová J., Sebela M., Galuszka P., Jacobsen S., Pec P., Frébort I., 2002. Xanthine dehydrogenase of pea seedlings: a member of the plant molybdenum oxidoreductase family. Plant Physiology and Biochemistry 40(5): 393-400.

Savoie D. Smith A., 1997. Effet de l'azote sur la production de semences du ray-grass vivace Barrage. Ministère de l'Agriculture, l'Aquaculture et des Pêches.

Savouré A., Jaoua S., Hua XueJun., Ardiles W., Van Montagu M., Verbruggen N. 1995. Isolation, characterization, and chromosomal location of a gene encoding the DELTA 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase in *Arabidopsis thaliana*. FEBS Letters .372: 13 -19.

Sbartai Hana, Rouabhi Rachid, Sbartai Ibtissem, Berrebbah Houria and Djebbar Mohammed-Réda, 2008. Induction of anti-oxidative enzymes by cadmium stress in tomato (*Lycopersicon esculentum*). African journal of Plant Science. Volume 2 : 072–076.

Sbartai H., 2008. Etude des effets du cadmium sur la tomate *Lycopersicon esculentum* L. essai in vivo et in vitro. Thèse de Doctorat : option Ecotoxicologie végétale. Université Annaba. 115 p

Schild R. Burnett M., 1966. Determination of protein bound carbohydrate in serum by a modified anthrone. Method Anal., Chem.32 ; 885-886.

Scholten M. C. T., 2005. Eutrophication management and ecotoxicology. Springer.

Schulze E-D. Beck E., Müller-Hohenstein K., 2005. Plant ecology. Springer. Berlin: 117-143.

Sebela M., Radova A., Angelini R., Tavladoraki P., Frebort I., Pec P., 2001. FAD-containing polyamine oxidases: a timely challenge for researchers in biochemistry and physiology of plants. *Plant Science* 160(2): 197-207.

Segal A.W., Abo A., 1993. The biochemical basis of the NADPH oxidase of phagocytes. *Trends in Biochemical Sciences* 18(2): 43-47.

Segal A.W., 2008. The function of the NADPH oxidase of phagocytes and its relationship to other NOXs in plants, invertebrates, and mammals. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 40(4): 604-618.

Servais, S., 2004. Altération mitochondriale et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone: Effets de l'age et d'une supplémentation en oméga-3. Thèse doctorat, Université Claude bernard-Lyon 1, France, pp. 19-35.

Shapiro A.D., Gerald I., 2005. Nitric Oxide Signaling in Plants. *Vitamins & Hormones*, Academic Press. Volume 72: 339-398.

Shraddha S., Sarita S., Rohit S. , Kavita P. , Kavita B.,2004. Translocation of metals and its effects in the tomato plants grow on various amendments of tannery waste : evidence for involvement of antioxidants. *Chemosphere* (57): 91-99.

Sies H., 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants." *Experimental Physiology* 82(2): 291-295.

Singh B, Sharma R., Garg B. 2006. "Kinetics and molecular modeling of biologically active glutathione complexes with lead (II) ions." *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 84(3): 593-600.

Slama A., Ben Salem M., Ben Naceur M., Zid E.D., 2005. Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. Institut national de la recherche agronomique de Tunisie (Inrat). Univ. Elmanar. Tunisie.

Slayter R., 1974. The effect of internal water status on plant growth development and yield In : plant responses to climatic factors . *Proc.of upsal simpsium*, Unesco.

Smirnoff N., 1998. Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion in Biotechnology* 9(2): 214-219.

Soltner D. 1998. Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies. Sainte-Gemme-sur-Loire, Sciences et Techniques Agricoles.

Souiki L., 2008, Caractérisations Biochimiques et Microbiologiques des eaux usées de la ville de Biskra et purification par le procédé biologique phragmifiltre. These de Doctorat en Biochimie appliquée. Université Annaba 29-40.

Souiki Lynda, Djebbar Houria, Rouabhi Rachid, FadelDjamel and Djebbar Mohammed Reda, 2010. Biological Purification of Wastewater in Batch Culture: Process Technology Phragmifilter American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences 2 (1): 30-35.

Stadtman E.R., Levine R.L., 2000. Protein Oxidation. Annals of NY Academy of Science 899(1): 191-208.

Spiteller G.,1998. Linoleic acid peroxidation--the dominant lipid peroxidation process in low density lipoprotein--and its relationship to chronic diseases." Chemistry and Physics of Lipids 95(2): 105-162.

Stiborova M, M Doubravova, A Brezinova and F A., 1988. "Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley (*Hordeum vulgare* L.)." Photosynthetica 20(4): 418-425.

Stohs S.J., Bagchi D., 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. Free Radical Biology and Medicine 18(2): 321-336.

Strosser P. (DG XI), Pauvall M., Plotscher E., 2009. Eau et agriculture : contribution à l'analyse d'une relation décisive mais difficile. Agriculture et environnement.

Subramaniam R., Despres C., Brisson N., 1997. A Functional Homolog of Mammalian Protein Kinase C Participates in the Elicitor-Induced Defense Response in Potato." Plant Cell 9(4): 653-664.

Tabaeizadeh Z., 1998. Drought-induced responses in plant cells. Int Rev Cytol, 182: 193-247.

Taehyun A.H.N; Moustapha O.K.E. ; SCHOFIELD A.; Gopinadhan P. 2005. Effects of phosphorus fertilizer supplementation on antioxidant enzyme activities in tomato fruits. Journal of agriculture. 53. 1539-1545.

Tahri E. H., Belabed A. et Sabki K., 1998. Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de la proline et chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine. synthétase chez trois variétés de blé dur (*Tricum durum*). Bull. Inst. Sci., Rabat, (21) : 81-87.

Talbert L.E., Blake N.K., Storlie E.W. & Lavin M. 1995. Variability in wheat based on lowcopy DNA sequence comparisons. *Genome*. 38 : 951 - 957.

Tardieu F., 2005. Plant tolerance to water deficit, physical limits and possibilities for progress. C.R. Geosciences. 337 :57-67.

Telfer A., Dhami S., Bishop S., Phillips D., Barber J., 1994. Beta-Carotene quenches singlet oxygen formed by isolated photosystem II reaction centers. Biochemistry 33(48): 14469-74.

Thripathi A.K., Tripathi S. 1999. Change in some physiological and biochemical characters in Albizia lebbek as bioindicateurs of heavy metal toxicity. J.Environ. Biol., 20 (2): 93-98.

Triboï E., 1990. Modèle d'élaboration du poids du grain chez le blé tendre. *Agronomie*. 10 : 191- 200.

Troll W., Lindsley J., 1955. A photometric method for the determination of proline; *J.Biochem*: 655-660.

Turcsanyi E., Lyons T., Plöchl M., Barnes J., 2000. Does ascorbate in the mesophyll cell walls form the first line of defence against ozone? Testing the concept using broad bean *Vicia faba* L. *Journal of Experimental Botany* 51: 901-910.

Turner N.C., 1986. Adaptation to water deficit: a changing perspective. *Aust J Plant Physiol* . (13): 175- 90.

Ursini F., Maiorino M., Brigelius-Flohé R., Aumann K., Roveri A., Schomburg D, Flohé L., 1995. Diversity of glutathione peroxidases. *Methods in Enzymology* 252: 38-53.

Valério L., De Meyer M., Penel C., Dunand C., 2004. Expression analysis of the *Arabidopsis* peroxidase multigenic family. *Phytochemistry* 65(10): 1331-1342.

Van Assche, F., Clijsters, H., 1990. Effects of metals on enzymes activity in plants, *Plant cell Environ*.13: 195-206.

Vanin A.F., Svistunenko D.A., Mikoyan V.D., Serezhenkov V.A., Fryer M.J, Baker N.R., Cooper C.E., 2004. Endogenous Superoxide Production and the Nitrite/Nitrate Ratio Control the Concentration of Bioavailable Free Nitric Oxide in Leaves. *Journal of Biological Chemistry* 279(23): 24100-24107.

Vranova E., Inze D., Van Breusegem F., 2002. Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany* 53(372): 1227-1236.

Wall A.M., Ripley R., Gale M.D., 1971. The position of a locus on chromosome 5B of *Triticum aestivum* affecting homoeologous meiotic pairing. *Genet Res*. 18: 329 - 339 p.

Wang G.Z., Miyashita N.T., Tsunewaki K., 1997. Plasmon analyses of *Triticum* (wheat) and *Aegilops*: PCR-single-strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) analyses of organellar DNA. *PNAS*. (94): 14570 - 14577.

Warneck P., Wurzinger C., J.,1988. *Phys. Chem.*, 92 (1988), 6278-6283.

Weber H., Chetelat A., Reymond P., and Farmer E.E., 2004. Selective and powerful stress gene expression in *Arabidopsis* in response to malondialdehyde. *The Plant Journal* 37: 877-888.

Weckbecker G, Cory J.G., 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse *leukemia* L 1210 cells in vitro. *Cancer letters*, 40: 257-264.

Weiser H., Vecchi M., 1982. Stereoisomers of alpha-tocopheryl acetate. II. Biopotencies of all eight stereoisomers, individually or in mixtures, as determined by rat resorption-gestation tests. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 52(3): 351-370.

Welinder K., 1992. Superfamily of plant, fungal and bacterial peroxidases. *Current Opinion in Structural Biology* 2(388-393).

Willekens H., Chamnongpol S., Davey M., Schraudner M., Langebartels C., Montagu M.V., Inzé D., Camp W.V., 1997. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C₃ plants. *The EMBO Journal* 16: 4806-4816.

Wingate V.P.M., Lawton M.A., Lamb C.J., 1988. Glutathione Causes a Massive and Selective Induction of Plant Defense Genes. *Plant Physiology* 87(1): 206-210.

Wingler A., Lea P., Quick W., Leegood R., 2000. Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 355(1402): 1517-1529.

White, P.J., 2000. Calcium channels in higher plants *Biochimica and Biophysica Acta*. 1465: 172-189.

Wojtaszek P., 1997. Oxidative burst : an early plant response to pathogen infection." *Biochem Journal* 322(3): 681-692.

Wong C.M., Cheema A.K., Zhang L. Suzuki Y.J., 2008. Protein Carbonylation as a Novel Mechanism in Redox Signaling. *Circulation Research* 102(3): 310-318.

Xing T., Higgins V.J., Blumwald E., 1997. Race-Specific Elicitors of *Cladosporium fulvum* Promote Translocation of Cytosolic Components of NADPH Oxidase to the Plasma Membrane of Tomato Cells. *Plant Cell* 9(2): 249-259.

Xue T., Hartikainen H., Piironen V., 2001. Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant Oil* 237. 55-61.

Yamasaki H., Cohen M.F., 2006. NO signal at the crossroads: polyamine-induced nitric oxide synthesis in plants. *Trends in Plant Science* 11(11): 522-524.

Yang S., Huang C., Wu Z., Hu J., Li T., Liu S., Jia W., 2006. Stomatal movement in response to long distance-communicated signals initiated by heat shock in partial roots of *Commelina communis* L. *Science in China Series C: Life Sciences* 49(1): 18-25.

Ykhlef N., Djekoun A. 2000. Adaptation photosynthétique et résistance à la sécheresse

chez le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) : Analyse de la variabilité génotypique. Option Méditerranéennes. Série A. 40: 327 -330.

Yoshida K., Terashima I., Noguchi K., 2006. Distinct Roles of the Cytochrome Pathway and Alternative Oxidase in Leaf Photosynthesis. *Plant Cell and Physiology* 47(1): 22-31.

Zhang Z., Collinge D.B., 1995. "Germin-like oxalate oxidase, a H₂O₂-producing enzyme, accumulates in barley attacked by the powdery mildew fungus." *Plant journal* 8(1): 139-145.

Zhang S., Hennessey T.C., Heinemann A., 1997. Acclimation of loblolly pine (*Pinus taeda*) foliage light intensity as related to leaf nitrogen availability. National Research Council of Canada, Ottawa, ON, Canada, 27: 1032-1040.

Zhang J., Nguyen H.T., et Blum A., 1999. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *J. Exp. Bot.* 50: 291-302.

Zhang S., Weng J. , Pan J., Tu T., Yao S., Xu C., 2003. Study on the photo-generation of superoxide radicals in Photosystem II with EPR spin trapping techniques. *Photosynthesis Research* 75(1): 41-48.

Zhao D., Reddy K. Raja., Kakanian Vijaya Gopal, Reddyb Europ V.R., 2005. Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum . *J. Agronomy* 22: 391–403.

Zid E., Grignon C., 1991. Tests de sélection précoce et résistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydrique, L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux aride. Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris. 91-108.

Zimmermann P., Hirsch-Hoffmann M., Hennig L. Gruissem W., 2004. GENEVESTIGATOR. *Arabidopsis* Microarray Database and Analysis Toolbox. *Plant Physiology* 136(1): 2621-2632

Zufferey A. et Febbraro I., 2005. La pollution de l'eau et du sol. Springer 1-4.

