



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THESE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE DOCTORAT LMD (3^{EME} CYCLE)

Spécialité: TOXICOLOGIE

Intitulé

Impact de xénobiotiques, sur une végétation aquatique, épuratrice des eaux usées : biométrie, aspect biochimique, enzymatique, métabolisme énergétique et cytotoxicité.

Presentée par: M^{lle} TLIDJEN Sara
Soutenu le 16 février 2014

Membre de Jury:

Dr. DJEBAR Mohammed-Réda	Prof.	Université de Annaba	Président
Dr. MEKSEM AMARA Leila	Prof	Université de Annaba	Directeur de thèse
Dr. BERREBBAH Houria	Prof.	Université de Annaba	Examineur
Dr. MEZEDJERI Lyamine	M.C.A.	Université de Skikda	Examineur
Dr. BENS Aid Rabah	Prof.	Université de Skikda	Examineur

Année universitaire: 2013 /2014

Remerciement

Je tiens à exprimer mes remerciements à toutes les personnes qui ont participé, à titre professionnel ou personnel à la réalisation de ce travail.

Pr. MEKSEM AMARA Leila a assuré la direction de cette thèse et m'a apportée une aide inestimable en m'accordant son attention et en me prodiguant ses précieux conseils; je la remercie très sincèrement.

Je tiens également à remercier chaleureusement le Professeur **DJEBAR Med Reda** pour avoir accepté de présider ce jury, il m'a beaucoup soutenue dans mes premiers pas, il m'a beaucoup apportée durant ces années d'études, je le remercie énormément.

Je tiens également à remercier chaleureusement **Pr BERREBBAH Houria** pour sa participation à ce jury, et d'avoir toujours répondu à mes questions avec patience et sourire.

Je tiens également à remercier **Mr BENSALD Rabah** Professeur à l'Université de Skikda, pour avoir pris sur son temps et accepter d'examiner ce travail et participer à ce jury.

Mes plus vifs remerciements à **Mr MEZEDJERI Lyamine** Docteur à l'Université de Skikda, pour sa disponibilité et pour faire partie de ce jury, je lui exprime toute ma gratitude d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens également à remercier **Mr TAHAR Ali**, Professeur à l'Université de Annaba, pour tous les efforts et l'aide qu'il a pu m'apporter pour le traitement des résultats par les différents tests statistiques.

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

Merci du fond du cœur

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents à qui je dois tout.

A ma belle mère pour son soutien et son encouragement.

A mon cher époux Sami, Sans ton aide, ta grande patience, ta compréhension et ton soutien, je n'aurais pu mener ce travail à bien.

A mon frère Hachem, pour ses encouragements et sa disponibilité

A mes chères frères Saleh et Moussa

A Mon adorable petite sœur Boutaina

Résumé

De nombreux macrophytes sont distingués par leur rôle de filtration et d'épuration hydrique. L'effet épuratif spécifique à ces plantes aquatiques, dépend de leur résistance vis-à-vis des ingrédients actifs provoquant d'éventuels effets secondaires, sur leur métabolisme. Les capacités d'épuration de *Elodea canadensis* et *Lemna minor*, lui permettent de filtrer les eaux usées, grâce au grand pouvoir absorbant de leur système racinaire. Ce dernier possède une grande faculté d'absorber les xenobiotiques et un taux d'accumulation élevé.

L'étude menée, vise à évaluer l'impact du xénobiotique, un herbicide « Calliofop 36EC » sur deux plantes aquatiques *Elodéa canadensis Michau 1830* et la lentille d'eau *Lemna minor*, épuratrices des eaux usées. Nous nous sommes donc intéressés à évaluer la toxicité de cet herbicide sur les aspects biométriques, biochimiques, enzymatiques, et le métabolisme énergétique (respiration et photosynthèse). A cet effet, ces espèces sont mises en culture en laboratoire, dans des conditions in vitro, en présence d'un xénobiotique (Herbicide : Calliofop 36 EC), le Calliofop 36 EC est additionné volontairement au milieu de culture (500ml d'eau distillée) à différentes doses : 0 (témoin) 35,70 et 140 µg à différents temps de traitement : 3, 7,14 et 21 jours.

L'ensemble des résultats obtenus, indiquent concernant les paramètres biométriques : une diminution dans les longueurs moyenne des feuilles, des tiges, des racines : (LMF), (LMT), (LMR), et le ratio MF/MS, cependant nous avons noté une forte augmentation dans les paramètres biochimiques : l'augmentation dans les taux des protéines totales, et des sucres totaux, et la teneur en proline, nous avons aussi remarqué une perturbation dans les teneurs en chlorophylles *a*, *b*, et *a+b*. Concernant les paramètres enzymatiques nous avons constaté une forte induction des activités enzymatiques : APX, GPX, CAT, GST, pour les biomarqueurs non enzymatiques on a noté une diminution des taux du GSH et une augmentation des taux de MDA. L'effet du Calliofop 36 EC sur le métabolisme énergétique c'est traduit par une perturbation des échanges gazeux de la cellule provoquant une diminution de l'activité respiratoire, et aussi les résultats montrent une inhibition de l'activité photosynthétique.

Mots clés : *Elodea canadensis*, *lemna minor*, Calliofop 36 EC, stress oxydant, biomarqueurs, pollution agricole.

ABSTRACT

Many macrophytes are distinguished by their role as water filtration and purification, the specific épuratif effect to these aquatic plants, depends on their resistance to the active ingredients causing any side effects on their metabolism. The treatment of *Elodea canadensis* and *Lemna minor* capacity, enabling it to filter wastewater, due to the large absorption capacity of the root system. The latter has a great ability to absorb xenobiotics and a high rate of accumulation.

The study aims to assess the impact of xenobiotic herbicide "Calliofop 36EC" two aquatic plants *Elodea canadensis* Michau 1830 and the duckweed *Lemna minor*, purifying wastewater. We are therefore interested in evaluating the toxicity of this herbicide on enzyme biometric, biochemical, and energy metabolism (respiration and photosynthesis). For this purpose, these species are cultured in laboratory conditions in vitro, in the presence of a xenobiotic (Herbicide: Calliofop EC 36), the EC 36 is Calliofop deliberately added to the culture medium (500 ml of distilled water) at different doses: 0 (control), 35, 70 and 140 mcg different processing time: 3, 7,14 and 21 days.

The overall results indicate on biometric parameters: a decrease in the average length of leaves, stems, roots, and the ratio FM/SM. However, we noted a significant increase in biochemical parameters: the increase in the rate of total protein and total sugars and proline content, we also noticed a disturbance in the levels of chlorophyll a, b, and + b. On enzymatic parameters we found a strong induction of enzymatic activities: APX, GPX, CAT, GST, for non-enzymatic biomarkers was observed decreased levels of GSH and increased MDA levels. The effect of Calliofop 36 EC on the energy metabolism that resulted in impaired gas exchange of the cell causing a decrease in respiratory activity, as well as the results show an inhibition of photosynthetic activity.

Keywords: *Elodea canadensis*, *Lemna minor*, Calliofop 36 EC, oxidative stress biomarkers, agricultural pollution.

ملخص

العديد من النباتات المائية المعروفة بدورها في تصفية المياه , هذا الدور في تصفية المياه يعتمد على مقاومة هذه النباتات للمكونات النشطة مما يؤدي إلى اثار جانبية على عملية ايظها , قدرة التصفية لنبتة *Elodea canadensis* و *Lemna minor* تسمح لها بتنقية المياه المعكرة . بفضل قوة امتصاصها الكبيرة نظرا للنظام الجذري هذا الأخير يمتلك قدرة امتصاص كبيرة للمواد السامة و نسب التراكم العالية .

هذه الدراسة تهدف إلى تقدير اثر المادة السامة المبيدة Calliofop 36 EC على نبتتين مائيتين , *Elodea canadensis* , *lemna minor* مصفية للمياه العكرة . انصب اهتمامنا تقدير نسبة تسمم هذا المبيد على القياسات البيومترية و البيوشيمية و الإنزيمية , ايضها (التنفس, التركيب الضوئي) على هذا المنوال فان هذه الفصيلة من النباتات وضعت للنمو في المخبر في ظروف مخبريه مع زيادة المادة السامة (Calliofop 36 EC) هذه المادة تمت إضافتها في هذا الوسط. 500ملل من الماء المقطر بجرعات متفاوتة 0 شاهد 35,70 و 140 مكرو غرام في أوقات مختلفة من المعالجة 37,14 و 21 يوم .

النتائج في مجملها تبين القياسات البيومترية , انخفاض في متوسط طول الورقة الساق كذلك بالنسبة للجذور و انخفاض في نسبة المادة الحية الجافة , سجلنا كذلك ارتفاع شديد في القياسات البيوشيمية , ارتفاع البروتينات السكريات و البرولين , و لقد سجلنا أيضا تذبذب في كميات الكلوروفيل ا, ب و أهب . فيما يخص القياسات الإنزيمية , لاحظنا ارتفاع ملحوظ للنشاطات الإنزيمية APX, GPX, CAT, GST أما بالنسبة للقياسات الغير إنزيمية لاحظنا انخفاض في كمية GSH و ارتفاع في كميات MDA , إن اثر Calliofop 36 EC على الايض الحيوي نتج عنه تدببب في التبادلات الغازية للخلية مما أدى إلى انخفاض في التنفس , و توقف التركيب الضوئي.

كلمات البحث : *Elodea canadensis* , *Lemna* طفيفة, Calliofop 36 EC, المؤشرات الحيوية الأوكسدة, التلوث الزراعي.

Table de Matière

Résumé	I
Abstract	II
Résumé en arabe	III
Liste des Figures	IV
Liste des Abréviations	V
Liste des tableaux	VI

Chapitre 1 : Introduction générale

Généralités	1
Les herbicides	6
• Modes d'action des herbicides	8
La phytoremédiation	10
Différents types de remédiation	10

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

A-Matériel expérimental	14
1. <i>Elodea Canadensis</i>	14
1.1 Description de l'espèce	14
1.2 Distribution et biotope de l'espèce	15
1.3 Classification de l'espèce	15
1.4 Répartition et écologie de l'espèce	16
2. <i>Lemna minor</i>	16
2.1. Description de l'espèce	17
2.2 . Distribution et Biotope de l'espèce	17

Sommaire

2.3. Classification et taxonomique	17
2.4. Répartition et écologie de l'espèce	18
3. Condition de l'expérimentation	18
B- L'herbicide utilisé	18
C - Conduite de l'essai	20
D. Les paramètres étudiés	21
a) Les paramètres biométriques	21
- Matière fraîche et matière sèche (MF, MS)	21
- Longueur moyenne des tiges(LMT)	21
- Longueur moyenne des feuilles(LMF)	21
-Longueur moyenne des racines (LMR)	21
b) Les paramètres biochimiques	21
-Dosage des Protéines totales	21
-Dosage des sucres totaux	22
- Dosage de la proline	22
c) Paramètre physiologique	23
-Dosage des chlorophylles	23
d) Dosage des Biomarqueurs	23
1. Dosages Enzymatiques	23
-Dosage de l'activité Ascorbate-peroxydases (APX)	24
-Dosage de l'activité Gaïacol-peroxydases (GPX)	24
-Dosage de l'activité Catalase (CAT)	25
-Dosage de l'activité Glutathion S-Transférase (GST)	25
2. Le Dosage non Enzymatique	26
- Dosage de malondialdehyde (MDA)	26

Sommaire

- Le Glutathion (GSH)	27
e) Etude du métabolisme respiratoire	27
f) Etude du métabolisme photosynthétique	28
E. Analyse statistique	28

Chapitre 3 : paramètres biométriques

Introduction	29
1. Objectif du travail	29
2. Analyse statistique	29
3. Résultats	30
3.1. <i>Elodea Canadensis</i>	30
3.1.1 Effets du Calliofop 36EC sur la longueur moyenne des tiges(LMT)	31
3.1.2 Effets du Calliofop 36EC sur le ratio matière fraîche et matière sèche (MF/MS)	33
3.2. <i>Lemna minor</i>	35
3.2.1 Effets du Calliofop 36EC sur la longueur moyenne des racines(LMR)	35
3.2.2 Effets du Calliofop 36EC sur le ratio matière fraîche et matière sèche (MF/MS)	37
• Discussion	38
• Conclusion	40

Chapitre 4 : Paramètres biochimiques et physiologiques

Introduction	41
<ul style="list-style-type: none">• Le potentiel épuratoire des plantes aquatiques• Mécanismes d'adaptation des plantes au stress<ul style="list-style-type: none">- La capacité photosynthétique- La teneur en chlorophylle- Accumulation de la proline en condition de stress- Les sucres	41 42 42 43 43 44
1. Objectif du travail	46
2. Analyse statistique des résultats	47
3. Résultats	47
3.1 Effets du Calliofop 36EC sur les paramètres biochimiques	47
3.1.1 <i>Elodea canadensis</i>	47
a) Effets du Calliofop 36EC sur la teneur en protéines totales	48
b) Effets du Calliofop 36EC sur la teneur en sucres totaux	50
c) Effets du Calliofop 36EC sur le taux en proline	51
3.1.2 <i>Lemna minor</i>	53
a) Effets du Calliofop 36EC sur la teneur en protéines totales	54
b) Effet du Calliofop 36 EC sur le taux des sucres totaux	55
c) Effet du Calliofop 36 EC sur le taux en proline	56
3.2 Effets du Calliofop 36EC sur la physiologie des plantes	58
3.2.1 Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle (<i>a,b ,a+b</i>) en µg/g de MF	58

Sommaire

a) <i>Elodea Canadensis</i>	58
b) <i>Lemna minor</i>	63
• Discussion	69
• Conclusion	73

Chapitre 5 : Paramètres enzymatiques

A. Le stress oxydatif chez les plantes	75
- Le statut redox cellulaire	75
- Les Espèces Réactives de l'Oxygène	75
B. Les principales sources enzymatiques	76
- Les antioxydants	76
C. Les principaux systèmes non enzymatiques	76
- <i>L'ascorbate ou vitamine C</i>	77
- Le Glutathion	77
D. Les principales enzymes antioxydantes	78
- Les superoxydes dismutases (SOD)	79
- Les catalases (CAT)	79
- Les enzymes du cycle Asada-Halliwell-Foyer	80
- Les peroxydases (POX)	81
- Les peroxyredoxines	81
- La glutathion S-transférase	82
E. Les mécanismes de la résistance aux herbicides	82
- La résistance par métabolisation	83
1. Objectif du travail	86
2. Analyse statistique des résultats	87
3. Résultats	87

Sommaire

3.1 Effets du Calliofop 36EC sur les activités enzymatiques	87
3.1.1 <i>Elodea canadensis</i>	87
a) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Ascorbate-peroxydases (APX)	88
b) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité la Gaïacol-peroxydases (GPX)	90
c) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Catalase (CAT)	91
d) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Glutathion S-Transférase (GST)	93
3.1.2 <i>Lemna minor</i>	94
a) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Ascorbate-peroxydases (APX)	95
b) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité la Gaïacol-peroxydases (GPX)	97
c) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Catalase (CAT)	98
d) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Glutathion S-Transférase (GST)	100
3.2 Effets du Calliofop 36EC sur les biomarqueurs non enzymatiques	101
3.2.1. <i>Elodea canadensis</i>	101
a) Effets du Calliofop 36 EC sur Le Glutathion (GSH)	102
b) Effets du Calliofop 36 EC sur malondialdehyde (MDA) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines)	103
3.2.2. <i>Lemna minor</i>	105
a) Effets du Calliofop 36 EC sur Le Glutathion (GSH)	106
b) Effets du Calliofop 36 EC sur le taux du malondialdehyde (MDA) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines)	107
• Discussion	108
• Conclusion	115

Chapitre 6 : Métabolisme énergétique

Introduction	117
• Les ERO : Dr Jekyll et Mr Hyde cellulaires	117
• Importance physiologique des ERO et signalisation oxydative	118
- Rôles physiologiques	118
- Signalisation oxydative	119
• Le stress oxydatif	120
- Conséquences	120
• Production d'ERO lors des principaux processus métaboliques	122
- Les chloroplastes et l'appareil photosynthétique	122
- Les mitochondries et la chaîne respiratoire	123
• La photorespiration	124
1. Objectif du travail	125
2. Résultats	126
2.1 Activité photosynthétique	126
2.1.1 <i>Elodea Canadensis</i>	126
2.1.2 <i>Lemna minor</i>	129
2.2 Activité respiratoire	132
2.2.1. <i>Elodea Canadensis</i>	132
2.2.2. <i>Lemna minor</i>	135
• Discussion	137
• Conclusion	139

Sommaire

Conclusion générale	140
Références Bibliographiques	142

LISTE DES FIGURES

Figure	TITRES	Pages
1	La photosynthèse	8
2	<i>Elodea canadensis</i>	14
3	La plante <i>Lemna minor</i>	16
4	Structure chimique du diclofop-méthyle	19
5	Dispositif expérimental: Echantillonnage en bloc aléatoire Complet <i>Elodea Canadensis</i>	20
6	Dispositif expérimental: Echantillonnage en bloc aléatoire Complet <i>Lemna minor</i>	20
7	L'électrode à oxygène	28
8	Effets du calliofop 36 EC sur la longueur moyenne des tiges (cm) chez <i>Elodea canadensis</i> (m±SD ; n=3).	31
9	Effets du calliofop 36 EC sur la longueur moyenne des feuilles (cm) chez <i>Elodea canadensis</i> (m±SD ; n=3).	32
10	Effets du calliofop 36 EC sur le ratio MF /MS des feuilles (cm) chez <i>Elodea canadensis</i> (m±SD ; n=3)	34
11	Effets du calliofop 36 EC sur la longueur des racines (cm) chez <i>Lemna minor</i> (m±SD ; n=3).	36
12	Effets du calliofop 36 EC sur le ratio MF /MS des feuilles (cm) chez <i>Lemna minor</i> (m±SD ; n=3).	37
13	Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en protéines totales (µg/g de MF) chez <i>Elodea canadensis</i> (m±SD ; n=3)	49
14	Effets du calliofop 36 EC sur la teneur en glucides (µg/g de MF) chez <i>Elodea canadensis</i> (m±SD ; n=3)	50
15	Effets du calliofop 36 EC sur le taux en proline (µg/g de MF) chez <i>Elodea canadensis</i> (m±SD ; n=3).	52
16	Effets du calliofop 36 EC sur la teneur en protéines totales (µg/g de MF) chez <i>Lemna minor</i> (m±SD ; n=3).	54
17	Effets du calliofop 36 EC sur la teneur en glucides (µg/g de MF) chez <i>Lemna minor</i> (m±SD ; n=3).	55

18	Effets du calliofop 36 EC sur le taux en proline ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez <i>Lemna minor</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	57
19	Effets du calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle <i>a</i> ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez <i>Elodea canadensis</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	59
20	Effets du calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle <i>b</i> ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez <i>Elodea canadensis</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	61
21	Effets du calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle <i>a+ b</i> ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez <i>Elodea canadensis</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	62
22	Effets du calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle <i>a</i> ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez <i>Lemna minor</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	65
23	Effets du calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle <i>b</i> ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez <i>Lemna minor</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	66
24	Effets du calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle <i>a+ b</i> ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez <i>Lemna minor</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	68
25	Les 3 phases de la métabolisation des herbicides. GST : Glutathion-S - Transférase ; GT : Glycosyltransférase ; T : transporteur.	84
26	Représentation de la localisation des différentes voies enzymatiques de détoxification des ERO au niveau d'une cellule végétale.	86
27	Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Ascorbate-péroxydases (APX) (nmol/min/mg Prot) chez <i>Elodea canadensis</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	89
28	Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité la Gaïacol-péroxydases (GPX) (nmol/min/mg Prot) chez <i>Elodea canadensis</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	90
29	Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité catalase (CAT) (nmol/min/mg Prot) chez <i>Elodea canadensis</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	92
30	Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Glutathion S-Transférase (GST) (nmol/min/mg Prot) chez <i>Elodea canadensis</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	93
31	Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Ascorbate-péroxydases (APX) (nmol/min/mg Prot) chez <i>Lemna minor</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	96
32	Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité la Gaïacol-péroxydases (GPX) (nmol/min/mg Prot) chez <i>Lemna minor</i> ($m \pm \text{SD}$; $n=3$).	97

33	Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité catalase (CAT) (nmol/min/mg Prot) chez <i>Lemna minor</i> (m±SD ; n=3).	99
34	Effet du Calliofop 36EC sur l'activité Glutathion S-Transférase (GST) (nmol/min/mg Prot) chez <i>Lemna minor</i> (m±SD ; n=3)	100
35	Effets du Calliofop 36EC sur Le Glutathion (GSH) (µM/ mg de protéines) chez <i>Elodea canadensis</i> (m±SD ; n=3)	102
36	Effets du Calliofop 36EC sur le malondialdéhyde (MDA) (µM/mg de protéines) chez <i>Elodea canadensis</i> (m±SD ; n=3)	104
37	Effets du Calliofop 36EC sur Le Glutathion (GSH) (µM/ mg de protéines) chez <i>Lemna minor</i> (m±SD ; n=3)	106
38	Effets du Calliofop 36EC sur le malondialdéhyde (MDA) (µM/mg de protéines) chez <i>Lemna minor</i> (m±SD ; n=3)	107
39	Schématisation de la balance entre les ERO et les antioxydants.	120
40	Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire	121
41	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de <i>l'Elodea Canadensis</i> (n mol/gr de MF), après 3 jours de traitement.	126
42	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de <i>l'Elodea Canadensis</i> (n mol/gr de MF), après 7 jours de traitement.	127
43	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de <i>l'Elodea Canadensis</i> (n mol/gr de MF), après 14 jours de traitement.	128
44	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de <i>l'Elodea Canadensis</i> (n mol/gr de MF), après 21 jours de traitement.	128
45	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de <i>Lemna minor</i> (n mol/gr de MF), après 3 jours de traitement.	129
46	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de <i>Lemna minor</i> (n mol/gr de MF), après 7 jours de traitement.	130
47	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de <i>Lemna minor</i> (n mol/gr de MF), après 14 jours de traitement.	131
48	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de	131

	<i>Lemna minor</i> (n mol/gr de MF), après 21 jours de traitement.	
49	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de <i>l'Elodea Canadensis</i> (n mol/gr de MF), après 3 jours de traitement.	132
50	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de <i>l'Elodea Canadensis</i> (n mol/gr de MF), après 7 jours de traitement.	133
51	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de <i>l'Elodea Canadensis</i> (n mol/gr de MF), après 14 jours.	134
52	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de <i>l'Elodea Canadensis</i> (n mol/gr de MF), après 21 jours de traitement.	134
53	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de <i>Lemna minor</i> (n mol/gr de MF), après 3 jours de traitement.	135
54	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de <i>Lemna minor</i> (n mol/gr de MF), après 7 jours de traitement.	136
55	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de <i>Lemna minor</i> (n mol/gr de MF), après 14 jours de traitement.	136
56	Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de <i>Lemna minor</i> (n mol/gr de PF), après 21 jours de traitement.	137

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAUX	TITRES	PAGE
1	Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY chez les paramètres biométriques des feuilles de <i>Elodea canadensis</i> après 3, 7, 14, 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC. (D ₀ témoin, D ₁ =35µg, D ₂ =70µg, D ₃ = 140 µg).	30
2	Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY chez les paramètres biométriques des feuilles de <i>Lemna minor</i> après 3, 7, 14, 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D ₀ témoin, D ₁ =35µg, D ₂ =70µg, D ₃ = 140 µg).	35
3	Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY chez les paramètres biochimiques des feuilles de <i>Elodea canadensis</i> après 3, 7, 14, 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC. (D ₀ témoin, D ₁ =35µg, D ₂ = 70µg, D ₃ = 140 µg).	48
4	Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY chez les paramètres biochimiques des feuilles de <i>Lemna minor</i> après 3, 7, 14, 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D ₀ témoin, D ₁ =35µg, D ₂ =70µg, D ₃ = 140 µg).	53
5	Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY chez les paramètres physiologiques des feuilles de <i>Elodea canadensis</i> après 3, 7, 14, 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D ₀ témoin, D ₁ =35µg, D ₂ =70µg, D ₃ = 140 µg).	58
6	Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY chez les paramètres physiologiques des feuilles de <i>Lemna minor</i> après 3, 7, 14, 21 jours de	64

	traitement par le Calliofop 36EC (D ₀ témoin, D ₁ =35µg, D ₂ = 70µg, D ₃ = 140 µg).	
7	Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY chez les paramètres enzymatiques des feuilles de <i>Elodea canadensis</i> après 3, 7, 14, 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D ₀ témoin, D ₁ =35µg, D ₂ = 70µg, D ₃ = 140 µg).	88
8	Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY chez les paramètres enzymatiques des feuilles de <i>Lemna minor</i> après 3, 7, 14, 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D ₀ témoin, D ₁ =35µg, D ₂ = 70µg, D ₃ = 140 µg).	95
9	Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY chez les paramètres non enzymatiques des feuilles de <i>Elodea canadensis</i> après 3, 7, 14, 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D ₀ témoin, D ₁ =35µg, D ₂ = 70µg, D ₃ = 140 µg).	101
10	Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY chez les paramètres non enzymatiques des feuilles de <i>Lemna minor</i> après 3, 7, 14, 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D ₀ témoin, D ₁ =35µg, D ₂ = 70µg, D ₃ = 140 µg).	105

LISTE DES ABREVIATIONS

ASC: Acide Ascorbique

APX: Ascorbate peroxydase

CAT: Catalase

CTE. Chaîne de transport d'électrons

ERO: Espèce Reactive de l' Oxygène

FAO: food and Agriculture Organization

FNR : Ferrédoxine NADP Réductase

GSH: Glutathion réduit

GSSG: Glutathion disulfure

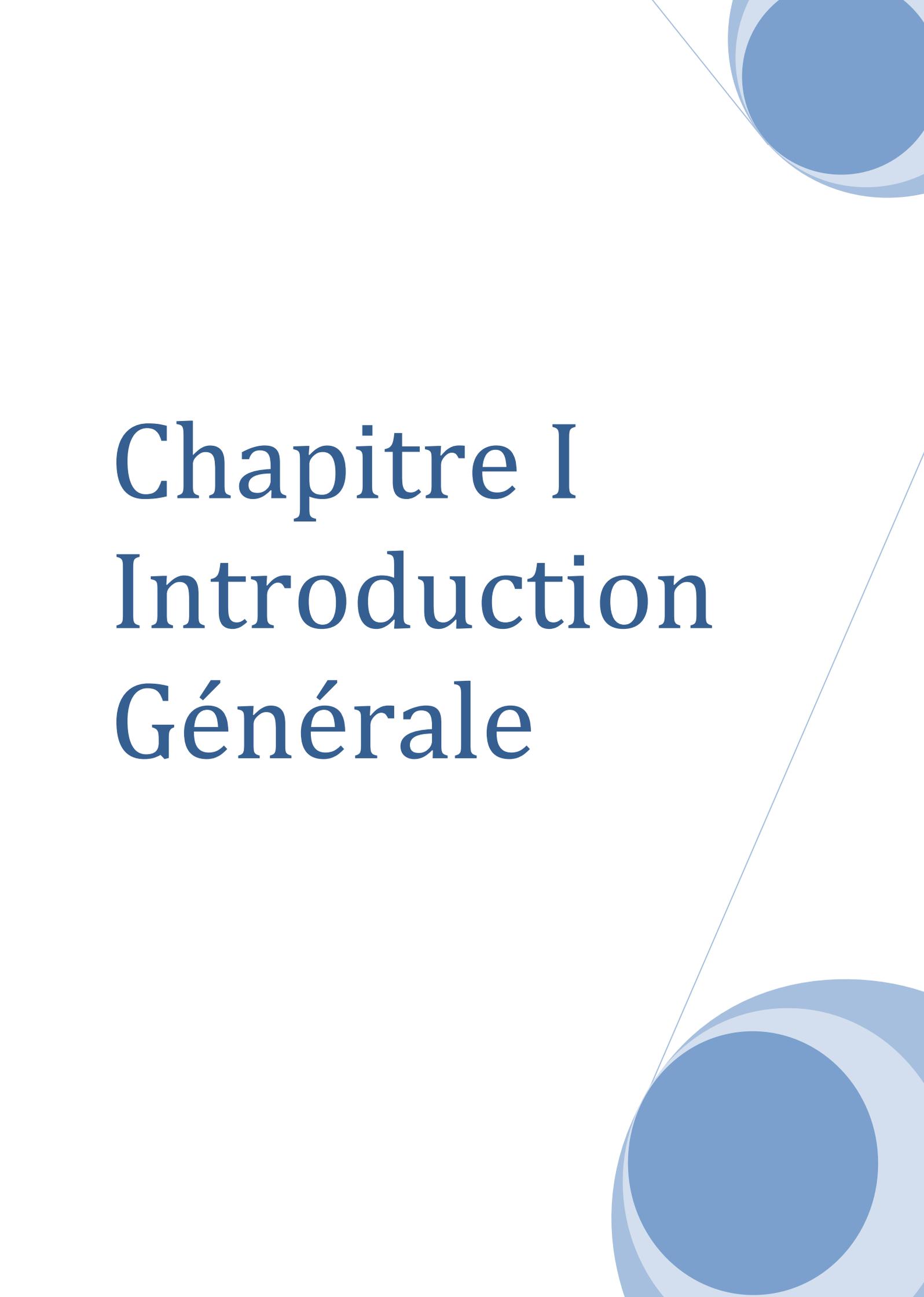
GST : Glutathion S transférase

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

MDA : Malonedialdéhyde

POX : Peroxydase

SOD : Superoxyde Dismutase



Chapitre I

Introduction

Générale

Généralités

L'activité humaine, qu'elle soit industrielle, urbaine ou agricole (utilisation d'engrais et de pesticides) produit des substances polluantes, qui seraient à l'origine de divers types de pollution. Ces polluants émis dans l'atmosphère, évacués dans les eaux usées se retrouvent dans les milieux aquatiques.

Les pollutions permanentes dues aux rejets domestiques ont considérablement évolué, ainsi que les pollutions périodiques (rejets urbains liés au tourisme) ou encore celles dues aux déversements de produits toxiques industrielles ou agricoles sans pour autant oublier le lessivage des sols en période de fortes pluies. L'utilisation intensive des pesticides a eu pour conséquence leur grande présence dans l'environnement. En dépit des régulations de plus en plus sévères au niveau de l'application des pesticides, dans le domaine de l'agriculture, les systèmes aquatiques, sont de plus en plus pollués par divers produits chimiques, ce qui entraîne leurs dérèglements.

Les produits phytosanitaires qui se retrouvent par lessivage des sols dans le biote aquatique peuvent affecter de façon négative les organismes aquatiques (**Gustavson et Wangberg, 1995; Spawn *et al.*, 1997; Seguin *et al.*, 2001; Lockert *et al.*, 2006**) et agir sur l'équilibre d'une communauté aquatique en déterminant quel taxon ou quelle espèce est en mesure de devenir l'organisme dominant dans l'écosystème (**Lüring et Roessink, 2006**).

Les plantes aquatiques non-cibles, sont exposées de multiples façons et sur de longues périodes, aux herbicides, car tous ces produits toxiques épandus de façon individuelle se retrouvent finalement tous réunis dans les systèmes aquatiques. De plus, les effets délétères des pesticides sur les espèces microbiennes ou planctoniques peuvent entraîner des impacts négatifs aux niveaux trophiques supérieurs. Par exemple, un changement de la composition lipidique, de la qualité nutritive du phytoplancton ou un changement dans la composition de la communauté phytoplanctonique peut affecter la vitesse de leurs croissance (**Ahlgren *et al.*, 1990**).

En effet, une baisse de la présence de certains de ces organismes qui servent de nutriments pour d'autres espèces, peut être dommageable pour les espèces consommatrices. On se rend de plus en plus compte, qu'il est impératif de tester les effets des mélanges d'herbicides afin de prédire les effets écotoxicologiques sur les écosystèmes aquatiques (**Cairns, 1983; Fairchild, 1994; Cedergreen et Streibig, 2005**).

Introduction Générale

Tous ces paramètres tendent à endommager la qualité des eaux superficielles et concourent à instaurer un stress pour les organismes peuplant ces écosystèmes aquatiques.

Comment doit en préserver la qualité de ces eaux ?

Pour supprimer ces contaminants de ces milieux, l'utilisation de plantes aquatiques pourrait diminuer le risque de ces eaux superficielles.

On ne peut parler de la lutte contre la pollution en Algérie, on n'est pas encore à ce stade. Par contre, on est au stade du constat des différentes pollutions, notamment par le biais des maladies hydriques. Chaque année, durant les saisons chaudes et sèches, des épidémies se déclarent çà et là. A Oran, du fait de l'évaporation intense, le taux de salinité de l'eau potable dépasse largement les normes. A Alger et Constantine, des cas de choléra sont signalés. Le développement socio-économique et l'urbanisation rapide ont eu un impact néfaste sur la qualité des ressources en eau. De nombreux cas de pollution industrielle et urbaine ont été observés en l'occurrence au niveau des barrages, des eaux souterraines et des cours d'eau. Ces derniers sont l'exutoire de rejets extrêmement polluants. Un réseau de surveillance de la pollution a été réalisé au niveau de cent stations à travers le pays, toutefois, il ne concerne que les eaux superficielles. Une trentaine de paramètres physico-chimiques et bactériologiques permettent le contrôle de la pollution, mais ces mesures ne sont pas continues. Il est à noter aussi, le manque de coordination entre les différents laboratoires et administrations chargées de la surveillance. (**kadi . A, 1997**)

La pollution de l'eau est une altération de sa qualité et de sa nature qui rend son utilisation dangereuse et (ou) perturbe l'écosystème aquatique. Elle peut concerner les eaux superficielles (rivières, plans d'eau) et/ou les eaux souterraines. Elle a pour origines principales, l'activité humaine, les industries, l'agriculture et les décharges de déchets domestiques et industriels (**Eckenfelder, 1982**) Elle se manifeste principalement, dans les eaux de surface, par :

- Une diminution de la teneur en oxygène dissous : les matières organiques, essentielles à la vie aquatique en tant que nourriture, peuvent devenir un élément perturbateur quand leur quantité est trop importante. Parmi les substances qui entraînent une importante consommation d'oxygène, notons en particulier les sous-produits rejetés par l'industrie laitière, le sang rejeté par l'industrie de la viande, les déchets contenus dans les eaux usées

Introduction Générale

domestiques, etc. Cette diminution de l'O₂ dissous peut provoquer dans certains cas des mortalités importantes de poissons.

- La présence de produits toxiques, rejetées sous différentes formes, provoquent des effets immédiats ou à court terme conduisant à un effet toxique brutal et donc à la mort rapide de différents organismes et des effets différés ou à long terme, par accumulation au cours du temps, des substances chez certains organismes. La plupart des produits toxiques proviennent de l'industrie chimique, de l'industrie des métaux, de l'activité agricole et des décharges de déchets domestiques ou industriels (**Thomazeau , 1981**)

- Une prolifération d'algues : bien que la présence d'algues dans les milieux aquatiques soit bénéfique pour la production d'oxygène dissous, celles-ci peuvent proliférer de manière importante et devenir extrêmement gênantes en démarrant le processus d'eutrophisation. Les algues se nourrissent de matières minérales c'est-à dire phosphore sous forme de phosphate, ainsi qu'azote (ammonium, nitrates et azote gazeux), carbone (gaz carbonique) et d'autres éléments minéraux. La présence excessive de ces éléments est essentiellement liée aux activités humaines, à l'agriculture et à l'industrie (**Berne et Cordonnier, 1995**)

- Une modification physique du milieu récepteur : le milieu peut être perturbé par des apports aux effets divers : augmentation de la turbidité de l'eau (ex. lavage de matériaux de sablière ou de carrière), modification de la salinité (ex. eaux d'exhaure des mines de sel), et augmentation de la température (ex. eaux de refroidissement des centrales nucléaires).

- La présence de bactéries ou virus dangereux : les foyers domestiques, les hôpitaux, les élevages et certaines industries agro-alimentaires rejettent des germes susceptibles de présenter un danger pour la santé.

L'ensemble des éléments perturbateurs décrits ci-dessus parviennent au milieu naturel de deux façons différentes : par rejets bien localisés (villes et industries) à l'extrémité d'un réseau d'égout ou par des rejets diffus (lessivage des sols agricoles, des aires d'infiltration dans les élevages, décharges, ...). L'introduction dans le sous sol provoque une pollution des eaux souterraines qui est caractérisée par une propagation lente et durable (une nappe est contaminée pour plusieurs dizaines d'années) et une grande difficulté de résorption ou de traitement, (**Springer, 1990**).

Introduction Générale

La teneur de l'eau en substances indésirables n'est pas toujours le fait de l'activité humaine. Certains phénomènes naturels peuvent également y contribuer. Par exemple, le contact de l'eau avec les gisements minéraux peut, par érosion ou dissolution, engendrer des concentrations inhabituelles en métaux lourds, en arsenic, etc. Des irrptions volcaniques, des épanchements sous-marins d'hydrocarbures... peuvent aussi être à l'origine de pollutions. **(Miquel, 2001)**

Si la pollution domestique des ressources est relativement constante, les rejets industriels sont, au contraire, caractérisés par leur très grande diversité, suivant l'utilisation qui est faite de l'eau au cours du processus industriel **(Gros, 1999)**

Selon l'activité industrielle, on va donc retrouver des pollutions aussi diverses que :

- des matières organiques et des graisses (abattoirs, industries agro-alimentaires...),
- des hydrocarbures (industries pétrolières, transports),
- des métaux (traitements de surface, métallurgie),
- des acides, bases, produits chimiques divers (industries chimiques, tanneries...),
- des eaux chaudes (circuits de refroidissement des centrales thermiques),
- des matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs).

Parmi les industries considérées traditionnellement comme rejetant des matières particulièrement polluantes pour l'eau, on citera, notamment, les industries agro-alimentaires, papetière, la chimie, les traitements de surface, l'industrie du cuir, etc. **(Colas, 1977)**.

Les pesticides sont aujourd'hui d'une pollution diffuse qui contamine tous les cours d'eaux, les principaux pesticides utilisés actuellement appartiennent à de grandes familles chimiques (organochlorés, organophosphorés, carbamates). La pollution par les pesticides est due à l'épandage de ces pesticides et leur dispersion par le vent, ensuite leur retombée avec les pluies sur le sol.

Introduction Générale

Le terme pesticide dérive du mot anglais « *Pest* » qui désigne tout animal ou plante (virus, bactéries, champignons, herbes, vers, mollusques, insectes, rongeurs, oiseaux et mammifères) susceptibles d'être nuisible à l'homme et/ou à son environnement. On qualifie de pesticide toutes les substances chimiques naturelles ou de synthèses utilisées en agriculture pour contrôler les différentes sortes de nuisibles, à l'exception des produits utilisés en médecine vétérinaire et en médecine humaine. Le terme pesticide, tel qu'il est utilisé par le grand public, englobe de très nombreux produits chimiques et biologiques. Ils sont définis par leur but :

- soit de protéger les productions végétales ou de détruire les indésirables dans les zones de production agricole. Ce sont les « produits phytosanitaires » des professionnels, ou les « produits phytopharmaceutiques » et « produits antiparasitaires à usage agricole » des juristes. Il existe actuellement 703 substances actives différentes homologuées entrant dans la composition d'une dizaine de milliers de spécialités commerciales ;

- soit de détruire ou repousser des organismes nuisibles pour l'homme, ses productions ou ses autres activités. Ce sont des pesticides non agricoles ou biocides, soumis à une réglementation distincte. **(Potera , 2007)**

On regroupe les pesticides selon leur famille chimique, dont les plus connues sont : les triazines (dont l'Atrazine et la Simazine), les carbamates, les urées substituées, les organophosphorés ,les organochlorés (dont le Lindane), etc. Certains, comme les dérivés du cuivre, du soufre, la nicotine, les pyréthrinés, les huiles végétales, des goudrons de bois, le chlorate de sodium sont utilisés depuis fort longtemps (certains depuis le XVIII^{ème} siècle) pour des soins aux végétaux ou pour désherber. La façon la plus commode de classer les produits phytosanitaires est de les considérer selon la nature du ravageur visé. On distingue les trois grandes familles suivantes :

- insecticides *stricto sensu* et espèces voisines : acaricides (acariens) et aphicides (pucerons). Sont aussi incluses les substances qui perturbent leur développement normal en empêchant l'éclosion des œufs (ovicides) et des larves (larvicides) ou la maturation sexuelle des adultes ;
- herbicides (désherbants totaux, sélectifs, débroussaillants, défanants et antigerminatifs) ;
- fongicides et fongistatiques. **(Carrier, 2009).**

Introduction Générale

Malgré un suivi encore hétérogène et insuffisant, de récentes études montrent que la présence en quantités excessive de pesticides dans les eaux est une réalité. La pollution des eaux de surface et souterraines par les pesticides a aujourd'hui un impact non négligeable sur la ressource en eau : la présence de pesticides, seuls ou avec d'autres causes, est à l'origine de près du quart du total des causes de non-conformité de l'eau potable.

D'autre part, la pollution diffuse d'origine agricole peut devenir l'impact majeur des hydrosystèmes dans certaines zones, en particulier dans les régions de culture intensive. (Carrier, 2009).

- Les herbicides

Un herbicide est une substance destinée à détruire ou limiter la croissance des végétaux (herbes et buissons) (Rappe, 1992). Une des conditions absolument indispensables au bon fonctionnement des herbicides est l'absorption du produit par la plante à détruire. Elle peut se faire soit par les parties souterraines, soit par les parties aériennes de la plante par diffusion à travers la cuticule et les stomates. Puis l'herbicide va pouvoir diffuser à l'intérieur de cette plante grâce à la sève ce qui nécessite une bonne solubilité des produits dans la sève. C'est pourquoi une des caractéristiques des herbicides est leur lipophilie relative pour traverser la membrane et diffuser au sein de la plante.

Selon Oturan et Mouchel , 2007, plusieurs familles de composés sont retrouvées chez les herbicides :

- **Les acides chlorophénoxy-alcanoïques**

Ce sont des analogues structuraux des auxines, hormones de croissance végétales dérivées de l'acide indol-acétique, d'où leur nom de phytohormones de synthèse.

Ces herbicides agissent par pénétration des feuilles, plus ou moins des racines et ils entraînent une croissance anarchique, létale pour les adventices traités à cause d'une activation de la division et surtout de l'élongation cellulaire.

Ils fonctionnent uniquement chez les plantes dicotylédones. (Carrier ,2009)

Introduction Générale

- **Les aminophosphonates**

Ce sont des herbicides systémiques très utilisés sur le chiendent, le liseron. Ce produit circule dans la plante par la sève après avoir été absorbé par les feuilles.

Il va agir par inhibition de la biosynthèse des acides aminés aromatiques ou de la glutamine au niveau du chloroplaste végétal, ce qui va provoquer la désorganisation du métabolisme de la mauvaise herbe, puis son dessèchement et enfin sa mort. (Carrier, 2009)

- **Les bipyridiles**

Ce sont des herbicides de contact actifs sur toutes les plantes à chlorophylle. Ils bloquent la photosynthèse. (Carrier, 2009)

- **Les triazoles**

Une molécule importante de cette famille est l'aminotriazole ou amitrole. Cet herbicide est absorbé par les feuilles et les racines et va inhiber la formation des caroténoïdes qui sont des pigments protecteurs des chlorophylles il va aussi empêcher la croissance des végétaux. (Carrier, 2009)

- **Les diazines et triazines**

Ces herbicides agissent sur la photosynthèse au niveau du chloroplaste. Au point de vue chimique, ce sont des hétérocycles hexagonaux avec deux atomes d'azote, contigus ou non pour les diazines, ou trois atomes d'azote symétriques alternant avec un atome de carbone pour les triazines.

Le troisième groupe est celui des triazones qui correspondent à des triazines asymétriques porteuses d'une ou plusieurs fonctions cétones. Ce sont l'hexazinone, la métamitronne, la métribuzine.

La présence dans les eaux souterraines de traces de ces produits et de leurs dérivés est un élément récurrent. C'est pourquoi beaucoup de ces produits ont été retirés dernièrement.

Aujourd'hui, il ne reste que la bentazone, la chlordiazone, la lénacile, la métamitronne et la métribuzine. (Carrier, 2009)

Introduction Générale

- Les phénylurées ou urées substituées

Ces molécules agissent sur la photosynthèse. Elles sont utilisées dans de nombreuses activités autres que l'agriculture comme l'Équipement pour le désherbage des bords de routes.

Leur action se situe sur les graminées comme le ray grass, le vulpin..

Ces substances sont pulvérisées sur les blés, les orges, les arbres tropicaux tels que le bananier, ou encore les vignes. (Carrier, 2009)

- Modes d'action des herbicides

Le but des herbicides est d'endommager la plante afin qu'elle meure. Ils agissent pour cela sur des cibles biochimiques très nombreuses. (Couderchet, *et al.*, 2000)

- Action sur la photosynthèse

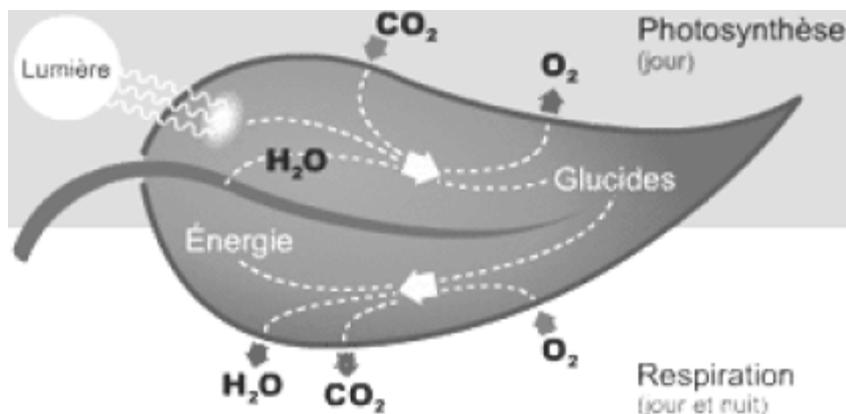


Figure1 : La photosynthèse (Carrier, 2009)

La photosynthèse est un mécanisme permettant aux plantes de fabriquer de la matière organique à partir de l'énergie solaire, d'eau et de carbone. Les plantes libéreront alors du dioxygène. Les mécanismes des herbicides jouent leur rôle à différents niveaux et aboutissent à la mort de la cellule à cause de réactions de photo-oxydation, mais aussi par la production d'oxygène sous forme réactive. Il va y avoir production d'ions superoxyde et de

Introduction Générale

peroxyde d'hydrogène qui vont donner la formation de radicaux hydroxyles. Les espèces chimiques réactives alors produites déclenchent la peroxydation des lipides et la destruction des pigments photosynthétiques. **(Carrier, 2009)**

* Action sur les membranes cellulaires

L'action des herbicides se fait par une augmentation de la perméabilité des membranes de la plante aux ions H^+ . De plus, les herbicides vont bloquer la synthèse d'ATP nécessaire au fonctionnement des ATPases qui permettent la sortie des ions H^+ en excès. Le pH de la cellule végétale ne pouvant plus se faire, il en résulte une mort de la plante. **(Carrier, 2009)**

* Action par inhibition de synthèse de la cellulose

La cellulose est un polymère du glucose qui est le principal constituant des cellules végétales, plus particulièrement au niveau de leur paroi. Du fait de cette action, la plante ne peut pas constituer normalement ces tissus végétaux et il en résulte une mort de la plante.

* Action au niveau de la synthèse des lipides

Il y a deux sites d'action lors de cette synthèse. Le premier site consiste en une inhibition de l'acétyl-coenzyme A carboxylase qui est une enzyme intervenant lors de la première étape de la synthèse des lipides. L'autre site d'action consiste en une inhibition de l'élongation des acides gras à longue chaîne carbonée nécessaires à la formation de la cuticule des plantes induisant une perte d'eau et de molécules de faible masse moléculaire nécessaires à la santé de la plante. **(Carrier, 2009)**

* Action sur la synthèse des acides aminés

Les herbicides vont pouvoir inhiber différentes enzymes comme l'énolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase (exemple du glyphosate), l'acétolactate synthase ou encore la glutamine synthase. Ceci se fait par fixation sur un site actif du phosphoénolpyruvate.

Le blocage de l'énolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase se traduit par un arrêt de la synthèse protéique, donc de la synthèse de lignine pourtant indispensable par ses fonctions de soutien pour la plante. **(Carrier, 2009)**

Introduction Générale

* Action sur la synthèse des pigments

Deux pigments sont concernés, les caroténoïdes et la chlorophylle.

Les caroténoïdes ont une fonction de protection car ils neutralisent la chlorophylle à l'état triplet et l'oxygène à l'état singulet. Les herbicides agissant par ce mécanisme n'ont qu'une action sur les caroténoïdes qui seront formés après leur pulvérisation, ceux présents avant l'épandage ne seront pas touchés. L'application de ces herbicides va aboutir à la formation de tissus albinos, qui ne sont alors plus capables de synthétiser la chlorophylle. (**Carrier, 2009**)

* Action par blocage de la division cellulaire

Certains herbicides, les dinitroanilines, les benzamides, vont se fixer sur l' α -tubuline ce qui empêche sa polymérisation en microtubules. Ils vont donc bloquer la division cellulaire au niveau des racines de la plante. De plus, ils entraîneront une dépolymérisation des microtubules nécessaires lors de la division cellulaire. (**Carrier, 2009**)

• La phytoremédiation

Au cours de l'évolution, les plantes ont développé des mécanismes complexes pour absorber les substances organiques ou minérales du sol, de l'eau et de l'air à travers leurs racines et leurs feuilles, lesquelles sont ensuite transportées dans d'autres parties de la plante pour être utilisées, transformées, dégradées ou stockées (**Cunningham et al., 1996 ; Polessp, 2005**). On a cherché à exploiter cette propriété et à les utiliser comme agent de traitement des pollutions. Cette technique appelée phytoremédiation permet de restaurer grâce aux plantes, les ressources essentielles que sont l'eau, les sols et l'air lorsqu'elles sont contaminées. Elle a pour but d'éliminer, contenir, ou rendre moins toxique les contaminants environnementaux et permet de réduire le risque de dégradation des écosystèmes naturels. La plante devient alors un système de pompage et de filtration dont les racines et les feuilles sont les extracteurs pouvant trouver, altérer et/ou transporter des éléments et des composés contre des gradients chimiques importants.

Introduction Générale

- **Différents types de remédiation**

Plusieurs mécanismes permettent aux plantes l'élimination des polluants par phytoremédiation (Schnoor, 1997 ; Schröder *et al.*, 2002 ; Susurla *et al.*, 2002 ; Pilon-Smits, 2005 ; Campos *et al.*, 2008):

➤ **La phytoextraction ou phytoaccumulation** utilise des plantes qui absorbent et concentrent dans leurs parties récoltables (feuilles, tiges, racines) les polluants provenant des sols ou des eaux. On utilise ce terme souvent dans le cas des métaux lourds et des composés organiques, avec l'utilisation de plantes accumulatrices et/ou hyperaccumulatrices qui sont capables de tolérer et d'accumuler ces polluants. (Dosnon-Olette , 2009)

➤ **La phytostabilisation** réduit la mobilité des contaminants. Les plantes adsorbent les polluants du sol, de l'eau ou de l'air, les retenant localement et réduisant leur biodisponibilité. C'est une méthode efficace pour empêcher la dispersion des polluants dans les eaux de surface et/ou souterraines. (Dosnon-Olette , 2009)

➤ **La phytotransformation ou phytodégradation** utilise les propriétés de certaines plantes à produire des enzymes qui catalysent la dégradation des substances absorbées ou adsorbées, celles-ci sont alors transformées en substances moins toxiques ou non toxiques par la métabolisation des contaminants dans les tissus des plantes ou par les organismes de la rhizosphère maintenue par la plante (on parle alors de **rhizodégradation, de phytostimulation ou encore de bioremédiation**). (Dosnon-Olette, 2009)

➤ **La rhizofiltration** permet la dépollution et la restauration des eaux de surface et souterraines. Les contaminants sont absorbés ou adsorbés par les racines des plantes en milieu humide. Lors de grande capacité d'absorption par ces dernières on parle de « **phytopumping** », on utilise le plus souvent des arbres (comme le saule ou le peuplier) pour assécher les terrains et extraire les polluants du sol. (Dosnon-Olette, 2009)

Introduction Générale

➤ **La phytovolatilisation** est le processus par lequel les plantes transforment les contaminants du sol ou des eaux polluées en éléments volatiles et les relâchent dans l'atmosphère via leurs feuilles. (**Dosnon-Olette, 2009**)

Dans notre étude nous nous sommes focalisés sur l'épuration des eaux usées d'origine agricole par l'utilisation de deux plantes aquatiques *Elodea Canadensis* et *Lemna minor*. En vue d'une utilisation en phytoremédiation ces deux plantes aquatiques doivent, si possible, présenter un bon compromis des qualités suivantes (**Chaudhry et al., 2002**) :

- être hypertolérante aux concentrations en polluants
- être hyperaccumulatrice
- avoir un système foliaire et racinaire développé
- avoir une activité photosynthétique intense
- permettre un transport et un stockage à taux élevé
- permettre une extraction rapide
- être dotée de mécanismes internes pour métaboliser des polluants
- être adaptable au climat local
- avoir une certaine résistance aux insectes et aux maladies

Dans ce travail, nous avons étudié la capacité d'épuration de deux plantes aquatiques : *Elodea canadensis* (Michaux, 1803) et la lentille d'eau *Lemna minor* vis-à-vis d'un pesticide. Il s'agit d'un herbicide « le Calliofop 36EC », utilisé sous forme d'une émulsion concentrée. Cet herbicide est un produit « ARYSTA LifeScience » dont la matière active est le **diclofop-méthyle**, appartenant à la famille des Aryloxyphénoxypropionates. le Calliofop 36EC est utilisé à des concentrations qui varient de 35 à 140µg.

Notre souci est de maintenir durablement la qualité des milieux aquatiques. Nous avons donc réalisé une étude préliminaire en laboratoire sur la toxicité des pesticides sur les paramètres biométriques, biochimiques, énergétiques, enzymologiques, et sur le métabolisme respiratoire. Les traitements sont effectués à 3 et 7, 14 et 21 jours.

Introduction Générale

Notre travail de thèse se structure en cinq chapitres :

Chapitre I : une introduction générale est consacrée aux pollutions des eaux , aux effets des pesticides sur l'environnement et aux plantes aquatiques ayant le pouvoir d'accumuler les pesticides et filtrer les eaux usées.

Chapitre II : Matériel et Méthodes : le matériel végétal utilisé dans notre expérimentation porte sur deux Macrophytes : *Elodea canadensis* et *Lemna minor*, suivi de leur classification et distribution, ainsi que les méthodes de dosages utilisées, afin de déterminer les effets toxiques de l'herbicide sur les paramètres étudiés.

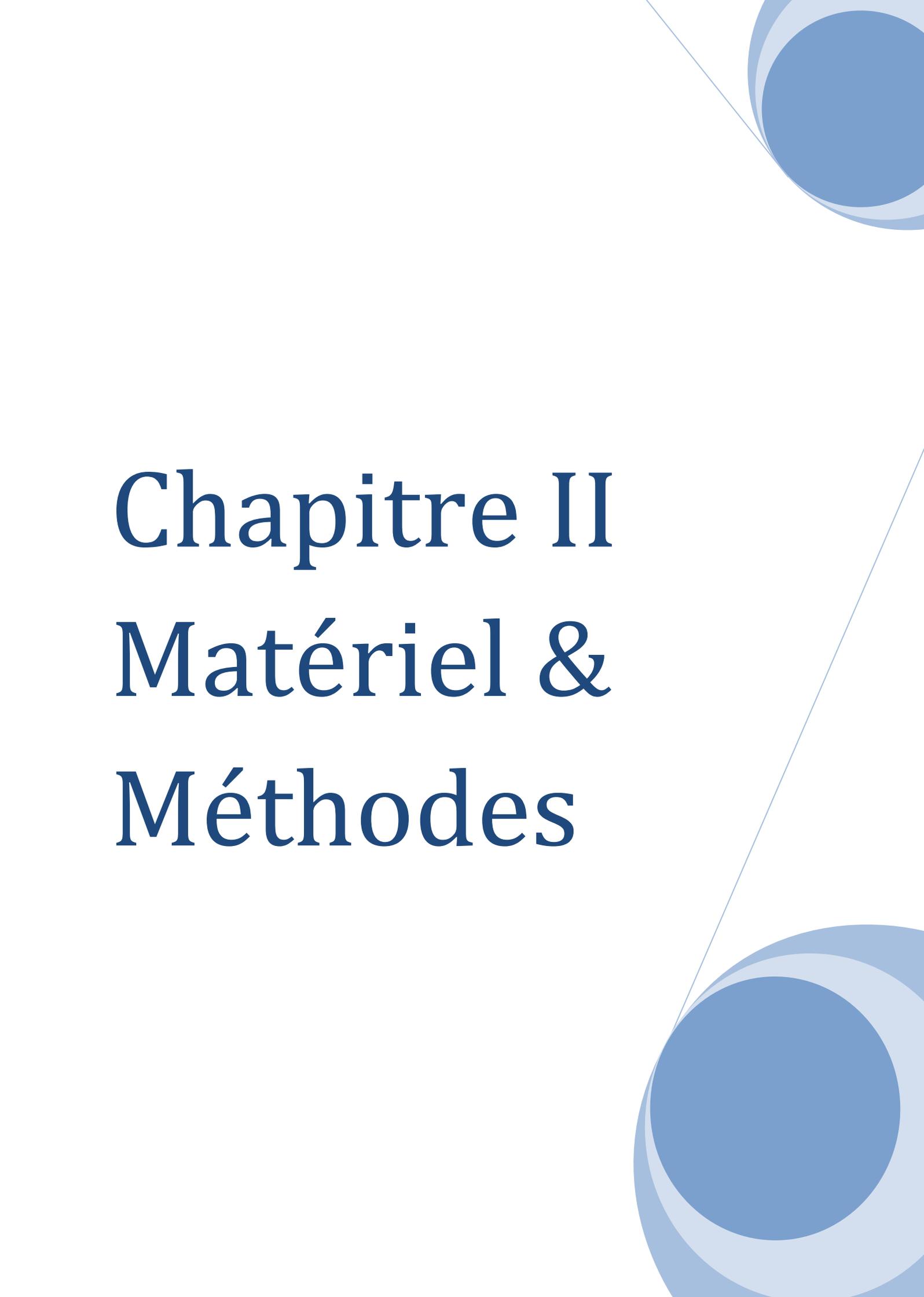
Chapitre III: partie Biométrie : déterminer les paramètres biométriques mesurés chez *Elodea canadensis* et *Lemna minor*, après exposition au xénobiotique Calliofop 36EC à différentes concentrations et différents temps.

Chapitre IV : partie Biochimique et Physiologique : mesurer les paramètres biochimiques et physiologiques chez *Elodea canadensis* et *Lemna minor* , après exposition au xénobiotique Calliofop 36EC à différentes concentrations et différentes durées d'exposition.

Chapitre V: partie enzymatique : quantifier le taux des activités enzymatiques et des biomarqueurs enzymatiques et non enzymatiques chez *Elodea canadensis* et *Lemna minor*, en réponse au stress engendré par l'herbicide Calliofop 36EC.

Chapitre VI : la polarographie : identifier le métabolisme respiratoire, qui regroupe l'activité respiratoire et l'activité photosynthétique, chez *Elodea canadensis* et *Lemna minor*, après avoir été traitées par la molécule Calliofop 36EC a différentes concentrations et différentes durées.

- Une conclusion générale, synthétise les principaux résultats de l'étude et est prolongé par un paragraphe évoquant les perspectives de recherche ouverts par ce travail.



Chapitre II

Matériel &

Méthodes

Matériel & Méthodes

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

A-Matériel expérimental :

Le matériel expérimental utilisé dans notre travail est représenté par deux plantes aquatiques *Elodea canadensis* (Michaux, 1803) et *Lemna minor*.

1. *Elodea canadensis*,

Il s'agit d'une angiosperme aquatique, de l'ordre des Hélobiales et de la famille des Hydrocharitacées. Présente dans les eaux courantes ou stagnantes. C'est une bonne plante oxygénante qui est originaire d'Amérique du Nord (Canada), et qui a été introduite involontairement en Europe au XIXème siècle. C'est une plante à croissance rapide, se multipliant par bourgeonnement, sa culture par bouturage est facile.

Cette plante est également connue pour ses propriétés de bioconcentration notamment de métaux (Maury-Brachet *et al.*, 1990 ; Kähkönen et Manninen, 1998 ; Chandra et Kulshreshtha, 2004 ; Fritioff et Greger, 2007), mais un peu moins en ce qui concerne l'épuration des pesticides (Rice *et al.*, 1997 ; Gao *et al.*, 2000 ; Olette *et al.*, 2008).



Figure 02 : *Elodea canadensis*

1.1. Description de l'espèce :

Nom vernaculaire : Elodée du canada

Feuillage : vert

Hauteur : de 30 à 200 cm de longue

Support culture : terre, vase, pierre de lave

origine : subcosmopolite

couleur : blanc (discret)

rusticité : oui

profondeur : de 30 à 150 cm

Matériel & Méthodes

Exposition : soleil

Développement : important

Commentaire : une Elodée très envahissante, plante oxygénante, chaque tronçon de plante flotte, émet des racines puis se fixe au fond du plan d'eau. (Mitchell, 1974).

1.2. Distribution et biotope de l'espèce :

L'*Elodée du Canada* est une espèce qui forme des tapis denses dans les eaux stagnantes ou lentes des lacs, étangs, rivières et marais, elle s'est largement naturalisée en Amérique centrale, en Amérique du Sud, en Europe (introduite vers 1836 en Irlande et en 1870 en France), en Afrique, en Asie, en Australie ainsi que dans les îles Hawaii. (Schulthorpe, 1967; Hutchinson, 1975).

Préférant un substrat en gravier ou un sol argileux, elle tolère un pH de l'eau entre 6,7 et 7,5 et une température de 20 à 24 °C. Cette plante ne supporte pas la sécheresse du sol, même passagère et ne tolère pas de situation ombragée ni la moindre trace de salinité dans le sol (D'agaro *et al.*, 2004).

1.3. Classification de l'espèce :

Termes scientifiques (international)

Terme en français

Règne :	Plantae	Plante
Embranchement :	magnoliophyta	Angiospermes
Classe :	liliopsida	Monocotylédones
Sous-classe :	Alismatidae	Alismatidées
Ordre :	Hydrocharitales	Hydrocharitales
Famille :	Hydrocharitaceae	Hydrocharitacées
Genre :	<i>Elodea</i>	<i>Elodée</i>
Espèce :	<i>canadensis</i> (Michaux, 1803).	

1.4. Répartition et écologie de l'espèce

Ce sont des plantes répandues dans toutes les zones tempérées d'Amérique du Nord. L'élodée est l'une des plantes aquatiques les plus communes à Washington. Elles se sont largement naturalisées en Europe, en Afrique, en Asie.

Les sédiments limoneux et les eaux riches en éléments nutritifs favorisent la croissance des élodées dans les lacs fertiles. Toutefois, ces plantes sont capables de s'adapter à diverses conditions écologiques, des eaux profondes aux étangs peu profonds, et à différents types de sédiments. Elles peuvent même prospérer en flottant entre deux eaux, non enracinées...

2. *Lemna minor*

Est une angiosperme aquatique, de l'ordre des Arales et de la famille des Lemnaceae. Les lentilles d'eau sont des plantes aquatiques flottantes de petite taille qui se présentent sous forme de colonies de frondes très vertes de 2 à 6 mm de diamètre. Les colonies sont formées de 2, 3 ou 4 frondes réunies par des pédicelles, chaque fronde porte une fine racine pouvant atteindre 3 cm. Ce végétal colonise très facilement la surface des eaux douces et calmes au niveau des étangs, des chenaux, des mares ... Il est très commun sous les latitudes tempérées. Il se multiplie très rapidement et de manière végétative, les frondes mères donnant naissance à des frondes filles qui arrivées à maturité se détachent des frondes mères pour donner de nouvelles colonies. Cet organisme est souvent utilisé pour les études écotoxicologiques et dans des tests normalisés (AFNOR, 1996 ; ISO, 2001).



Figure 03. La plante *Lemna minor* (Dosnon-Olette, 2009)

2.1 Description de l'espèce :

Cette plante est présente dans les eaux douces relativement dormantes (étangs, lacs, eaux stagnantes et cours d'eau calmes) et les estuaires des zones tropicales à tempérée (**apha et al. ,1992**). C'est une espèce cosmopolite dont la répartition est presque mondiale (**godfrey et wooten, 1979**).

2.2 Distribution et Biotope de l'espèce :

Lemna minor est répandue sur toutes les eaux douces du globe, dormantes et eutrophes (chargées en substances nutritives).

Elle se développe principalement à la surface des eaux calmes, lentes (un brassage de surface est une façon de lutter contre la prolifération des lentilles). Elle affectionne la lumière, la chaleur et les eaux chargées en nutriments. Elle est présente jusqu'à 1800 m d'altitude.

2.3 Classification et taxonomique :

Règne plantae-	plantes
Sous-règne	tracheobionta
Division magnoliophyta-	angiospermes, phanérogames
Classe liliopsida-	monocotylédones
Sous-classe	alismatidae
Ordre	alismatales
Famille	araceae
Genre	<i>Lemna</i>
Espèce	<i>minor</i>

2.4 Répartition et écologie de l'espèce

Cosmopolite, *Lemna minor* est présente presque partout dans le monde (**Godfrey et wooten, 1979**). Elle est largement répandue dans toute l'Amérique du nord, sauf dans l'extrême nord et dans les Bahamas. On la trouve aussi en Europe, en Asie, en Afrique et en

Matériel & Méthodes

Australie (**Britton et brown, 1970**). En Amérique du nord, on la trouve de terre-neuve à l'Alaska et au sud jusqu'en Californie, au Texas et en Floride (**Newmaster et al., 1997**).

Les lenticules forment un élément essentiel de l'écosystème des eaux stagnantes et peu profondes. Elles font partie intégrante de la chaîne alimentaire, fournissent de la nourriture à la sauvagine et aux oiseaux des marais, tels que les foulques, les canards noirs. Ces plantes fournissent aussi de la nourriture, un abri, de l'ombrage et un substrat aux poissons et aux invertébrés aquatiques (**Jenner et Janssen, 1989 ; Taraldsen et Noberg-King, 1990 ; Apha et al., 1992 ; Newmaster et al., 1997**). Dans les conditions favorables à la croissance, elles peuvent se multiplier rapidement et former un tapis dense, constitué de divers genres et espèces (**Rimer, 1993**), dominé par une seule espèce (**Wang, 1987**).

3. Conditions de l'expérimentation :

L'expérience est réalisée en laboratoire, dans des conditions *in vitro*. Notre expérimentation a porté sur 12 échantillons du même poids (15g) en ayant effectué trois répétitions par paramètres étudiés. La durée de traitement est de 3, 7, 14 et 21 jours. Nos essais sont réalisés dans des volumes de 500 ml d'eau additionné volontairement du xénobiotique Calliofop 36 EC à différentes doses : 0 (témoin), 35, 70 et 140 µg de produit.

B- L'herbicide utilisé :

Nous avons utilisé un herbicide nommé " Calliofop 36EC " c'est un produit ARYSTA LifeScience dont la matière active est le **diclofop-méthyle**.

Le **diclofop-méthyle** est un herbicide de post levée sélectif pour le contrôle de la folle avoine et des mauvaises herbes annuelles et herbacées trouvées parmi les crucifères, l'orge, le blé. (**Worthing, c. r, 1983**)

La matière active a été développée dans les années 1970 par Hoechst AG. Depuis le 31/12/2001, elle se retrouve dans le domaine public après avoir été la propriété d'Agrevo (puis de Bayer CropSciences).

Matériel & Méthodes

Le diclofop-méthyle est un Inhibiteur de l'ACCCase et est un tueur en herbe qui inhibe la première étape de la synthèse des lipides, en inhibant le composé acétyl coenzyme À carboxylase (ACCCase). Les Inhibiteurs de l'ACCCase influent sur la production de la membrane cellulaire, dans les méristèmes (points de croissance) des graminées. Les ACCCases de graminées sont sensibles à ces herbicides, tandis que les ACCCases des plantes dicotylédones ne le sont pas. (Frank., Clegg., 1979-1984)

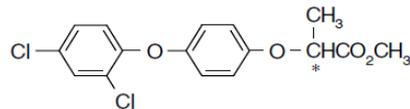


Figure 04 : Structure chimique du diclofop-méthyle (X. Gu *et al.* ,2010)

Famille : Aryloxyphénoxy-propionates. **Formule chimique** : $C_{16}H_{14}Cl_2O_4$

Synonyme : Methyl 2-(4-(2,4-dichlorophenoxy)phenoxy-propionate; 2-[4-(2,4-Dichlorophenoxy)-phenoxy-propanoic acid methyl ester

Dose homologuée : 2 à 2,5 l/ ha

Matière active: 360g/l de Diclofop Méthyle

C - Conduite de l'essai :

Pour tester l'effet de l'herbicide Calliofop 36 EC sur *Elodea Canadensis* et *Lemna minor*, nous avons choisi les doses suivantes ; 0 (témoins), 35, 70 et 140µg de calliofop36 EC avec trois répétitions par traitement à 3, 7, 14 et 21 jours d'exposition.

Elodea canadensis



B1	(D2)	(D0)	(D3)	(D1)
B2	(D3)	(D0)	(D1)	(D2)
B3	(D2)	(D3)	(D1)	(D0)

Figure 05 : Dispositif expérimental: Echantillonnage en bloc aléatoire Complet.

Matériel & Méthodes

Lemna minor

B1	(D2)	(D0)	(D3)	(D1)
B2	(D3)	(D0)	(D1)	(D2)
B3	(D2)	(D3)	(D1)	(D0)

Figure 06: Dispositif expérimental: Echantillonnage en bloc aléatoire Complet *Lemna minor*

D. Les paramètres étudiés

a) Les paramètres biométriques:

- **Matière fraîche et matière sèche (MF/MS)**

Ce paramètre a été réalisé après 3,7, 14 et 21 jours de traitement, à l'aide d'une balance de précision pour la détermination du poids frais des échantillons.

La matière sèche des plantes est obtenue après passage des échantillons à l'étuve, pendant 24h à une température comprise entre 5 et 100°C.

- **Longueur moyenne des tiges(LMT) :**

Les paramètres d'élongation des tiges sont réalisés par le suivi des longueurs moyennes des tigelles pendant 3,7, 14 et 21 jours avec marquage à l'encre de chine.

- **Longueur moyenne des feuilles(LMF) :**

Les paramètres d'élongation des feuilles sont réalisés par le suivi des longueurs moyennes des feuilles pendant 3,7, 14 et 21 jours avec marquage à l'encre de chine.

Matériel & Méthodes

- **Longueur moyenne des racines (LMR):**

Pour suivre la croissance de la plante, on a mesuré la longueur des racines de chaque échantillon à 3, 7, 14 et 21 jours de traitement avec marquage à l'encre de chine.

b) Les paramètres biochimiques

- **Dosage des Protéines totales :**

Les protéines foliaires de *Elodea canadensis* et *Lemna minor* sont dosées par colorimétrie selon la méthode de Bradford, (1976). Le principe de la méthode est basé sur la fixation d'un colorant acide (bleu de coomassie) sur les protéines au niveau de résidus basiques et aromatiques, cette fixation provoque un transfert de sa couleur qui passe du rouge au bleu. Ce changement de coloration est mesuré à une longueur d'onde de 595nm par spectrophotomètre (JENWAY 3600) en utilisant l'Albumine Sérum bovine (BSA) comme standard.

- **Dosage des sucres totaux**

Le dosage des sucres totaux est réalisé selon la méthode de Schields et Burnet (1960) qui utilise l'Anthrone en milieu sulfurique comme réactif (200 mg d'Anthrone, 100 ml d'acide sulfurique) et une solution mère de glucose à 50 µg/ml.

Cette méthode comprend l'extraction d'une pesée de 100 mg d'échantillon (MF). On ajoute 3 ml d'éthanol à 80 %, on laisse le tout à une température ambiante pendant 48 h. On évapore ensuite l'éthanol, et on rajoute 20 ml d'eau distillé. On prélève 2 ml d'extrait auquel on rajoute 4 ml d'Antrone.

Les absorbances sont mesurées au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 585 nm.

- **Dosage de la proline**

La technique de dosage de la proline utilisée est celle de Troll et Lindsley, (1955), modifiée par Dreier et Goring (1974). la gamme d'étalonnage est réalisée a partir d'une solution mère de proline (20µg/ml).

Cette méthode est réalisée comme suit : après refroidissement on prélève 1 ml de la solution, à laquelle on ajoute 1 ml d'acide acétique (CH₃COOH) et 1 ml de mélange contenant 120ml d'eau distillée+ 300 ml d'acide acétique+ 80ml d'acide ortho phosphorique et 25 mg de ninhydrine.

Matériel & Méthodes

Les solutions sont portées à ébullition pendant 30 min, elles virent au rouge ; après refroidissement on ajoute 5ml de toluène, et on procède à une agitation, deux phases se séparent :

- une phase inférieure sans proline
- une phase supérieure qui contient la proline, cette phase est ensuite récupérée et déshydratée par l'adjonction de Na_2SO_4 .

On procède enfin à la détermination des densités optiques des échantillons à la longueur d'onde 528 nm, après étalonnage de l'appareil par mélange (acide acétique+eau distillée+acide ortho phosphorique = ninhydrine).

c) Paramètre physiologique

- **Dosage des chlorophylles :**

L'extraction des chlorophylles est effectuée selon la méthode de Holden (1975), qui consiste en une macération du végétal dans de l'acétone. Le traitement des échantillons se fait comme suit : on pèse 1g des feuilles du végétal coupé en petits morceaux et broyées dans un mortier avec 20ml d'acétone à 80% et environ 100mg de bicarbonate de calcium (CaCO_3). Après le broyage total, la solution est ensuite filtrée et mise dans des boîtes noires afin d'éviter l'oxydation des chlorophylles par la lumière.

La lecture se fait aux deux longueurs d'onde 645nm et 663nm, après étalonnage de l'appareil avec la solution témoin d'acétone à 80%. L'équation qui nous permet de calculer les valeurs des chlorophylles (Arnon, 1949) est :

$$\text{Chl.}a = 12,70 \cdot \text{DO} (663) - 2,69 \cdot \text{DO} (645)$$

$$\text{Chl.}b = 22,90 \cdot \text{DO} (645) - 4,60 \cdot \text{DO} (663)$$

$$\text{Chl.} (a+b) = 8,02 \cdot \text{DO} (663) + 20,20 \cdot \text{DO} (645)$$

d) Dosage des Biomarqueurs

1. Dosages Enzymatiques

Préparation de l'extrait enzymatique : La méthode utilisée afin d'obtenir l'extrait enzymatique des feuilles des deux Macrophytes : *Elodea Canadensis* et *Lemna minor*. L'extrait sera utilisé pour la mesure de l'activité ascorbate-péroxydase (APX), gaïacols-péroxydase (GPX) et le Glutathion transférase (GST).

Après chaque traitement (3, 7, 14, et 21 jours), les feuilles 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 20 min (centrifugeuse Sigma 3-16K). Le surnageant obtenu sera utilisé comme extrait pour la détermination des différentes activités enzymatiques.

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

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

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

Matériel & Méthodes

- **Dosage de l'activité Ascorbate-peroxydases (APX) :** Le dosage 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 $\epsilon = 2800M^{-1}.cm^{-1}$. l'activité APX est exprimée en nmol/min/mg de protéines.
- **Dosage de l'activité Gaïacol-peroxydases (GPX) :** L'activité gaïacol-peroxydase (GPX) est déterminée par spectrophotométrie (spectrophotomètre Jenway 6300) à 470nm suivant la technique de Hiner *et al.*, (2002) le coefficient d'extinction linéique molaire utilisé est $\epsilon = 2470M^{-1}.cm^{-1}$. pour un volume final de 3ml, le mélange réactionnel contient : 100µl d'extrait enzymatique, 50µl d'H₂O₂ à 0,03% et 2850µl de tampon phosphate-Gaïacol (50mM NaK, 8mM de gaïacol, pH=7,20). L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique. La réaction est déclenchée par l'ajout du peroxyde d'hydrogène. L'activité GPX est exprimée en nmol/min/mg de protéines.
- **Dosage de l'activité Catalase (CAT) :** Le dosage spectrophotométrique de l'activité catalase (CAT) est réalisé suivant la méthode de Cakmak et Horst (Boscoloa *et al.*, 2003). La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant trois minutes (spectrophotomètre wilya) pour une longueur d'onde de 240nm et un coefficient d'extinction linéique molaire $\epsilon = 39400 M^{-1}.cm^{-1}$.L Pour un volume final de 3ml, le mélange réactionnel contient : 100µl de l'extrait enzymatique brut, 50µl de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ à 0,3% et 2850µl de tampon phosphate (50mM, pH= 7,2). L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique. La réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée. L'activité catalase est exprimée en nmol/min/mg de protéines.
- **Dosage de l'activité Glutathion S-Transférane (GST) :** Le dosage de la glutathion S-transférane est réalisé par la méthode de Habig *et al.*, (1974) . Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4

Matériel & Méthodes

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

Les échantillons sont homogénéisés dans un tampon phosphate à pH 6,5 et à 100mM et centrifugés à 9000g pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage consiste à faire réagir 200µl (0,2ml) du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (20mM)-GSH (**100mM**) [**0,4052g CDNB, 3,072g GSH, 1ml éthanol, 99ml tampon phosphate (100mM, pH 6,5)**]. La variation de la densité optique due à l'apparition du complexe CDNB-GSH est mesurée toutes les 15 secondes pendant 1 minute à 340nm. Contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant. Les concentrations de la GST sont exprimées en µmole /min/ mg de protéines et l'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

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

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (µM/min/mg de protéines).

ΔD₀ : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps. .

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB (mM⁻¹cm⁻¹).

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

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

mg de protéine : quantité de protéines exprimée en mg.

2. Le Dosage non Enzymatique

- **Dosage de malondialdéhyde (MDA)**

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

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

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (μM/mg de protéines).

ΔD₀ : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

155 : coefficient d'extinction molaire du TBA (mM⁻¹cm⁻¹).

V_t : volume total dans la cuve : 1. ml .

V_s : volume du surnageant utilisé dans le dosage : 0.5 ml.

mg de protéine : qualité de protéines exprimée en mg.

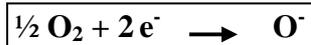
- **Le Glutathion (GSH)** : L'extrait enzymatique est homogénéisé dans une solution d'E.D.T.A à 0,02M et subissent une déprotéinisation par l'acide sulfo-salicylique 0,25%. Après centrifugation à 2000 g pendant 10 minutes le surnageant est utilisé pour le dosage spectrophotométrique avec le réactif DTNB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

Matériel & Méthodes

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

e) 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 maintenant 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**).

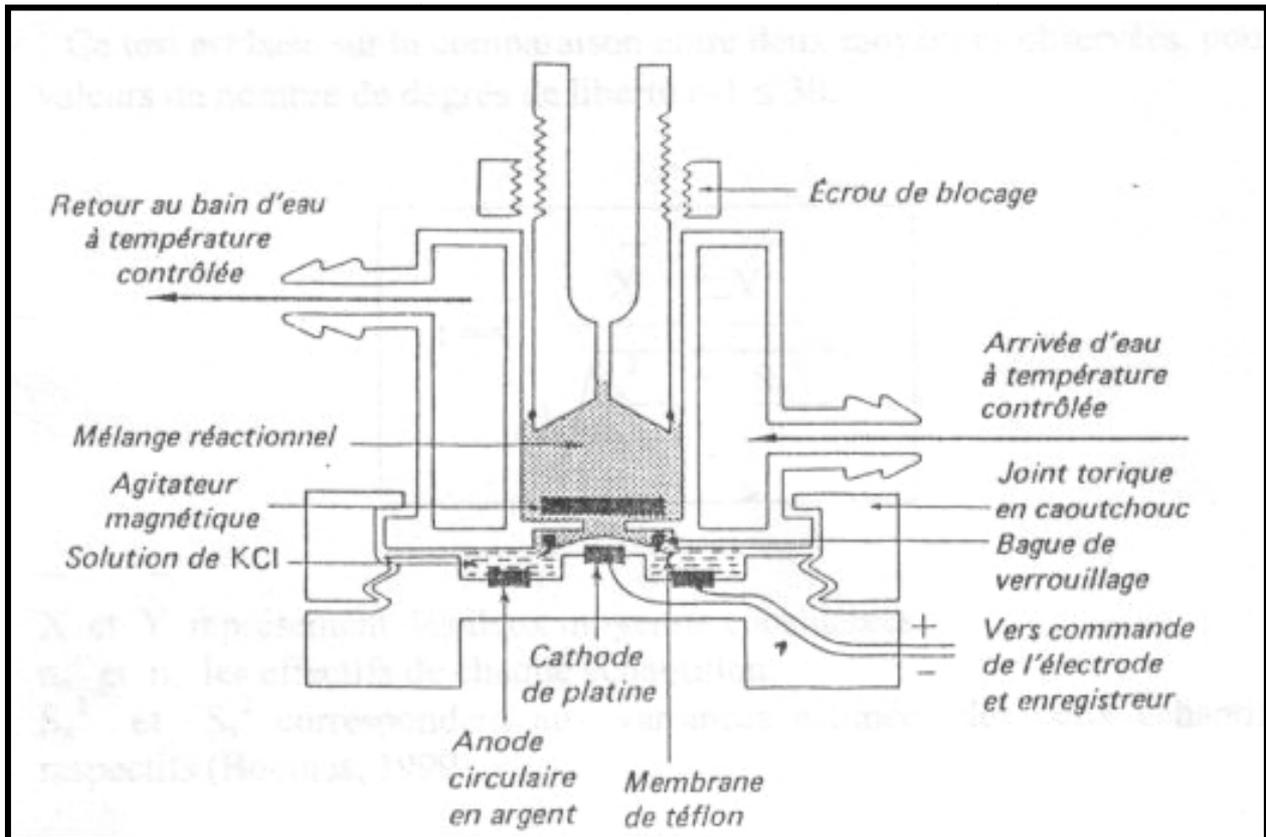


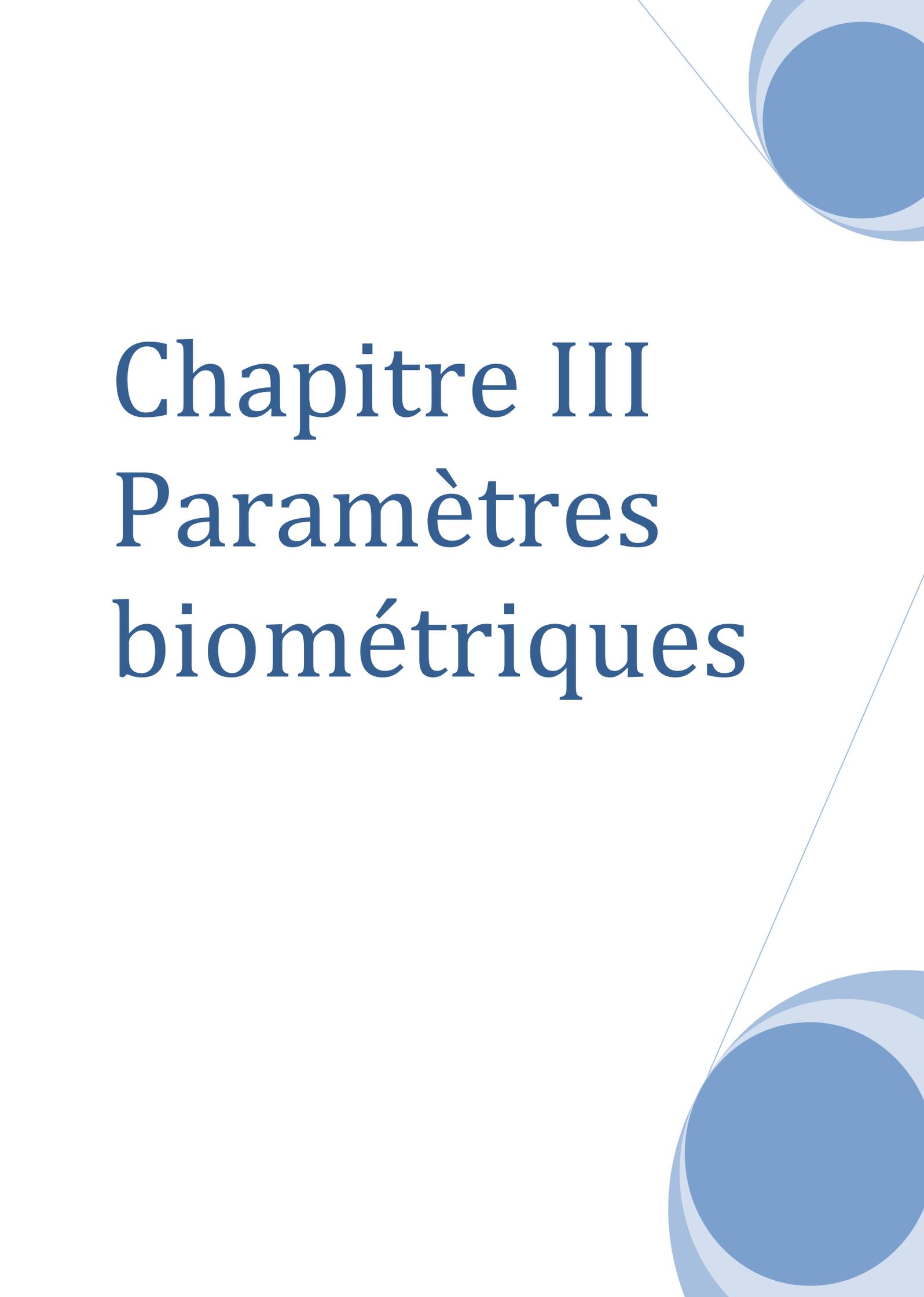
Figure 07 : l'électrode à oxygène (Djebar et Djebar, 2000).

f) Etude du métabolisme photosynthétique :

L'intensité photosynthétique des feuilles isolées est mesurée par l'électrode à oxygène comme pour l'intensité respiratoire où l'échantillon (feuilles) est caché par une boîte noire afin d'accélérer le processus métabolique.

E. Analyse statistique :

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique grâce au logiciel Minitab 16. Les données sont représentées par la moyenne plus ou moins l'écart type ($m \pm SD$). Une analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) a été effectuée. Les moyennes ont été comparées par le test de TUKEY et DUNNETT. Le seuil de signification est $\alpha \leq 0.05$ (Dagnelie, 1999).



Chapitre III

Paramètres

biométriques

Introduction

La toxicité d'une substance est définie en fonction de l'interaction entre la substance, l'organisme et le temps (**Rand, 1995**). Le plus souvent, s'il n'y a pas absorption du contaminant par l'organisme, il n'y a pas de toxicité possible. Cependant, la simple présence du polluant à l'intérieur de l'organisme n'implique pas obligatoirement d'effet toxique ; la concentration de la forme toxique doit atteindre un seuil au niveau des cibles moléculaires à partir duquel il y a toxicité. On parle alors de biodisponibilité toxicologique (**Lanno et al., 1998**).

Landrum et al., (1996) précisent que l'accumulation est un lien direct entre les concentrations en contaminants dans l'environnement et leurs effets potentiels aux différents niveaux biologiques. La recherche de corrélation entre les concentrations internes et les effets toxiques est alors apparue comme un moyen de prédire ces effets en mesurant la quantité de polluant accumulée par un organisme (**Hopkin, 1990 ; Mc Carty et Mackay, 1993 ; Van Straalen, 1996**). **Depledge et Rainbow, 1990**, considèrent que la charge corporelle totale dans un organisme n'est pas une approche suffisante pour localiser et prédire les effets toxiques car la toxicité peut être influencée par la distribution du contaminant dans les différents tissus.

1. Objectif du travail

L'objectif de ce chapitre est d'étudier les effets du Calliofop 36 EC, sur la biométrie des Macrophytes étudiées : *Elodea canadensis* et *Lemna minor*

2. Analyse statistique :

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique grâce au logiciel Minitab 16. Les données sont représentées par la moyenne plus ou moins l'écart type ($m \pm SD$). Une analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) est effectuée. Les moyennes ont été comparées par le test de TUKEY et DUNETTE. Le seuil de signification est $\alpha \leq 0.05$ (**Dagnelie, 1999**).

Paramètres biométriques

3. Résultats

Dans cette partie nous représentons les principaux résultats obtenus. Les paramètres biométriques mesurés sont : la longueur moyenne des tiges (LMT), la longueur moyenne des feuilles (LMF), et le ratio matière fraîche matière sèche (MF/MS)

3.1 *Elodea canadensis*

Tableau 01 : Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY pour les paramètres biométriques des feuilles de *Elodea canadensis* après 3, 7, 14, 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC. (D₀ témoin, D₁=35µg, D₂= 70µg, D₃= 140 µg).

Variables	ddl	SCE	CM	Fobs	P	Dunette	Tukey
X ₁ -3J	3	56,750	18,917	12,11	0,006 **	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ (A,B),D ₂ ,D ₃ (B)
X ₁ -7J	3	80,750	26,917	4,91	0,047 *	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ (A,B), D ₃ (B)
X ₁ -14J	3	101,563	33,854	6,69	0,024 *	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ (A,B) , D ₃ (B)
X ₁ -21J	3	76,595	25,532	44,59	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ (A,B), D ₂ (B), D ₃ (C)
X ₂ -3J	3	0,2451	0,0817	0,56	0,660 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₂ -7J	3	0,83129	0,27710	3,26	0,102 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₂ -14J	3	0,76953	0,25651	6,03	0,030 *	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₂ -21J	3	0,386567	0,128856	21,49	0,001 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ ,D ₁ (A), D ₂ ,D ₃ (B)
X ₃ -3J	3	0,001759 3	0,000586 4	19,53	0,002 **	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B),D ₂ (A,B,C), D ₃ (B,C)
X ₃ -7J	3	0,000200 9	0,000067 0	13,47	0,004 **	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B) , D ₂ ,D ₃ (B)
X ₃ -14J	3	0,000666 7	0,000222 2	0,26	0,852 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₃ -21J	3	0,014625	0,004875	2,43	0,164 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)

X₁ : longueur des tiges

X₂ : longueur des feuilles

X₃ : MF/MS

3.1.1. Effets du Calliofop 36EC sur la longueur moyenne des tiges(LMT) :

La figure (8), représente les effets du Calliofop 36EC sur la longueur moyenne des tiges(LMT) de *Elodea Canadensis* à 3 jours de traitement après analyse de la variance ANOVA à un critère de Classification (dose) (**Tab. 01**), on constate une diminution très significative ($p \leq 0.01$) des traités par apport au témoin , après 7 et 14 jours de traitement la réduction enregistrée des traités par apport au témoin est significative ($p \leq 0.05$), après 21 jours de traitement la figure 8 , indique une baisse hautement significative ($p \leq 0.001$) des tiges traitées avec effet dose dépendant.

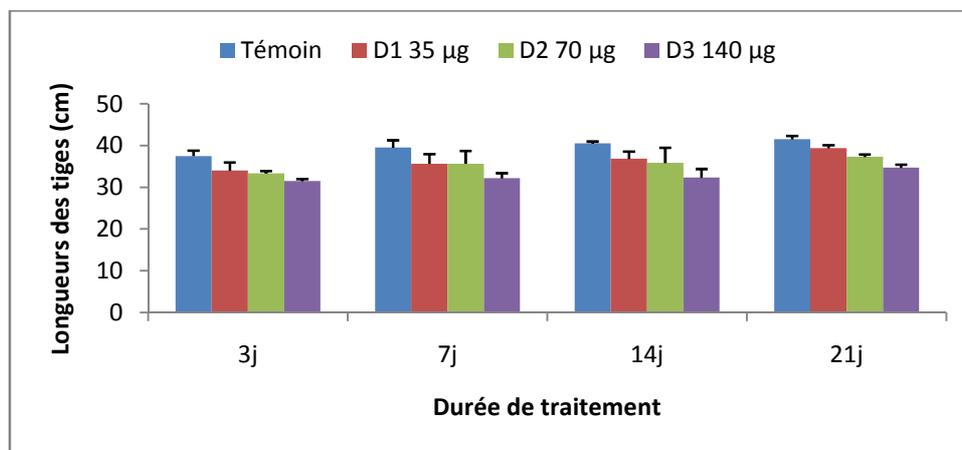


Figure 8: Effets du Calliofop 36 EC sur la longueur moyenne des tiges (cm) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n = 3$)

Le test de **DUNETTE** indique pour la longueur des tiges X_1 : Après 3 jours de traitement, le témoin D_0 est différent de D_1 , D_2 et D_3 . Après 7 jours de traitement le test de **DUNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 . Après 14 jours de traitement, les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 . Enfin après 21 jours de traitement le test de **DUNETTE** montre que le témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . (**Tab. 01**).

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour la longueur des tiges X_1 les résultats suivants : après 3 jours de traitement deux groupes de doses apparaissent , le premier groupe **A** : comprend la dose témoin D_0 et la dose D_1 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses : D_1 , D_2 , D_3 , cependant la dose D_1 est d'une part identique à la dose témoin D_0 et aux doses D_2 et D_3 mais ces deux dernières sont différentes de la dose témoin D_0 . Après 7 jours de traitement le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes de doses, le premier groupe **A** : comprend la dose témoin D_0 et les doses D_1 et D_2 ;

Paramètres biométriques

Le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 et D_3 , les doses D_1 et D_2 sont d'une part identiques au témoin D_0 et la dose D_3 , mais d'autre part, les dose D_0 et D_3 sont différentes. Après 14 jours de traitement le test de TUKEY a mis en évidence deux groupes de doses, le premier groupe **A** : comprend la dose témoin D_0 et la dose D_1 et D_2 ; Le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 et D_3 , les doses D_1 et D_2 sont d'une part identiques au témoin D_0 et la dose D_3 mais d'autre part, les dose D_0 et D_3 sont différentes.

Le test de TUKEY après 21 jours de traitement, a permis de mettre en évidence trois groupes de doses, le premier groupe **A** : se compose des doses : D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les dose D_1 et D_2 , le troisième groupe **C** : est composé de la dose D_3 . La dose D_1 est identique à la dose D_0 et D_1 , en même temps, elle est différente de la dose D_3 . Aussi cette dernière est différente des trois autres doses : D_0 , D_1 , et D_2 . (**Tab. 01**).

3.1.2 Effets du Calliofop 36EC sur la longueur moyenne des feuilles(LMF) :

La figure (9), indique les effets du Calliofop 36 EC sur la longueur moyenne des feuilles (LMF) de *Elodea canadensis*. Après 3 et 7 jours de traitement, la diminution de la longueur moyenne des feuilles est non significative ($P \geq 0,05$), après 14 jours de traitement la diminution de LMF est significative ($p \leq 0,05$) des traités comparativement au témoin, à 21 jours de traitement la diminution de LMF est hautement significative ($p \leq 0,001$) par rapport au témoin, ces résultats sont confirmés par l'analyse de la variance ANOVA à un critère de Classification (dose). (**Tab.01**).

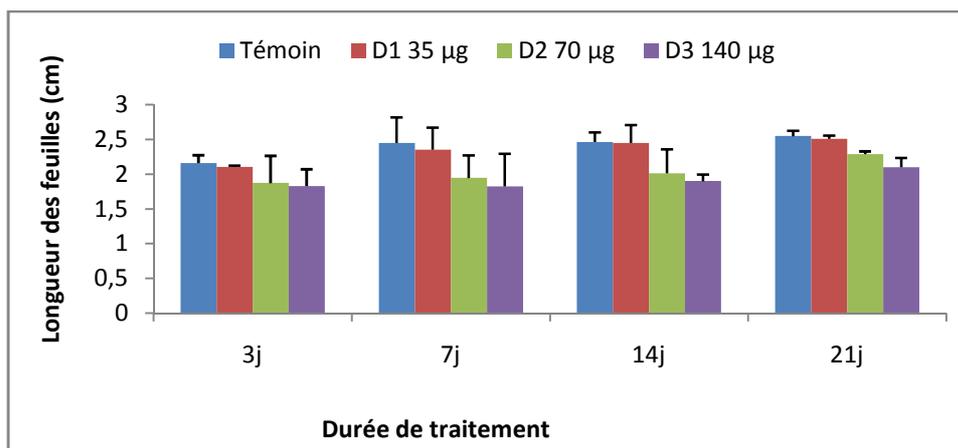


Figure 9: Effets du Calliofop 36 EC sur la longueur moyenne des feuilles (cm) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Paramètres biométriques

Le test de **DUNETTE** indique pour la longueur moyenne des feuilles \bar{X}_2 qu' après 3 jours de traitement, les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques, à la dose témoin D_0 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNETTE** révèle que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques à la dose témoin D_0 ; Après 14 jours de traitement, le test de **DUNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 . Après 21 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que les doses D_0 et D_1 sont identiques entre elles et différentes des doses D_2 et D_3 . (**Tab. 01**)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour La longueur moyenne des feuilles \bar{X}_2 qu' après 3 jours de traitement, un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques au témoin D_0 , après 7 jours de traitement , le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec la doses témoin D_0 ; Après 14 jours de traitement ,Le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identique avec la doses témoin D_0 ; Après 21 jours de traitement , le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents, le premier groupe **A** : contient les doses : D_0 , D_1 et le deuxième groupe **B** : se compose des doses : D_2 et D_3 , les deux groupes sont parfaitement séparés : la dose D_1 est identique à la dose témoin D_0 et différente des doses D_2 et D_3 , ces deux dernières sont identiques entre elles et différentes des doses D_0 et D_1 . (**Tab. 01**).

3.1.3 Effets du Calliofop 36EC sur le ratio matière fraîche et matière sèche (MF/MS):

La figure (10), montre les effets du Calliofop 36EC sur la biomasse chez *Elodea Canadensis*, l'analyse de la variance ANOVA à un critère de Classification (dose). (**Tab.01**) montre une réduction très significative du ratio MF/MS ($p \leq 0,01$), comparativement au témoin après 3, et 7 jours de traitement. Après 14 et 21 jours de traitement la réduction du ratio MF/MS est non significative ($P \geq 0,05$).

Paramètres biométriques

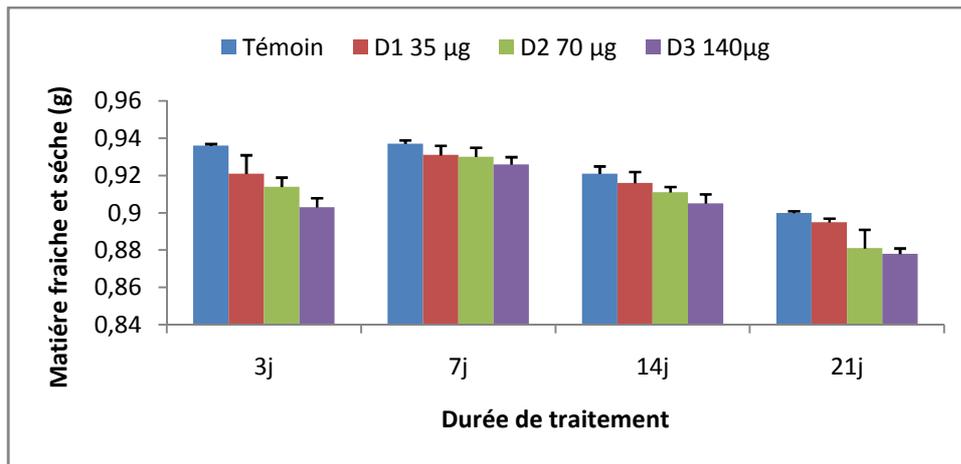


Figure 10: Effets du Calliofop 36 EC sur le ratio MF /MS des feuilles (cm) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n=3$).

Le test de **DUNETTE** indique pour le ratio matière fraîche matière sèche MF/MS X_3 , après 3 jours de traitement, indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres doses D_1 , D_2 par contre après 7 jours de traitement, la dose témoin D_0 est différente des trois autres doses D_1 , D_2 et D_3 ; Cependant, après 14 jours de traitement les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques à la dose témoin D_0 ; et après 21 jours de traitement, le test de **DUNETTE** révèle que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques à la dose témoin D_0 . (**Tab. 01**).

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour le ratio matière fraîche matière sèche MF/MS X_3 ; Après 3 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents le premier groupe **A**: se compose des doses D_0 , D_1 , le deuxième groupe **B**: contient les doses D_1 , D_2 , et le troisième groupe **C**: est composé des doses D_2 et D_3 , la dose D_1 est d'une part identique à la dose témoin D_0 et D_2 , d'une autre part la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique à la dose D_3 , cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 , alors qu'après 7 jours de traitement le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents le premier groupe **A**: se compose des doses D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B**: comprend les doses D_1 , D_2 et D_3 . La dose D_1 est identique à la doses témoin D_0 et au doses D_2 et D_3 quoi que ces deux dernières sont différentes par rapport à D_0 . Après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence un seul groupe **A**: il comprend les doses: D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec le témoin D_0 ; Après 21 jours de traitement le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence un seul groupe

Paramètres biométriques

A : il comprend les doses : D₀, D₁, D₂, et D₃, donc les trois doses D₁, D₂, et D₃ sont identiques entre elles et identiques avec le témoin D₀. (**Tab. 01**).

3.2 *Lemna minor*

Tableau 02 : Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY pour les paramètres biométriques des feuilles de *Lemna minor* après 3, 7, 14 et 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D₀ témoin, D₁=35µg, D₂= 70µg, D₃= 140 µg).

Variables	ddl	SCE	CM	Fobs	P	Dunette	Tukey
X ₁ -3jour	3	11,5740	3,8580	10,18	0,009 **	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ (A,B),D ₃ (B)
X ₁ -7jour	3	10,362	3,454	3,39	0,095 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₁ -14jour	3	3,94269	1,31423	19,43	0,002 **	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ (A,B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₁ -21jour	3	1,51243	0,50414	51,96	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ (B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₂ -3jour	3	0,087492	0,029164	3,84	0,076 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,(A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₂ -7jour	3	0,061292	0,020431	8,67	0,013 **	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,(A)	D ₀ D ₁ ,(A), D ₂ (A,B),D ₃ (B)
X ₂ -14jour	3	0,063492	0,021164	13,90	0,004 ***	D ₀ ,D ₂ ,(A)	D ₀ (A), D ₁ (A,B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₂ -21jour	3	0,056492	0,018831	45,50	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ , D ₂ (B) D ₃ (C)

X1 : longueur des racines

X2 : MF/MS

3.2.1 Effets du Calliofop 36EC sur la longueur moyenne des racines(LMR) :

La figure (11), démontre les effets du Calliofop 36 EC sur la longueur moyenne des racines (LMR) de la lentille d'eau *Lemna minor*. L'analyse de la variance ANOVA à un critère de Classification (dose), (**Tab.02**) met en évidence une diminution très significative ($p \leq 0.01$) de (LMR) des traités par apport au témoin après 3 et 14 jours de traitement. Par contre après 7 jours de traitement, cette diminution de LMR est non significative ($P \geq 0,05$), et est hautement significative ($p \leq 0.001$) par apport au témoin après 21 jours de traitement.

Paramètres biométriques

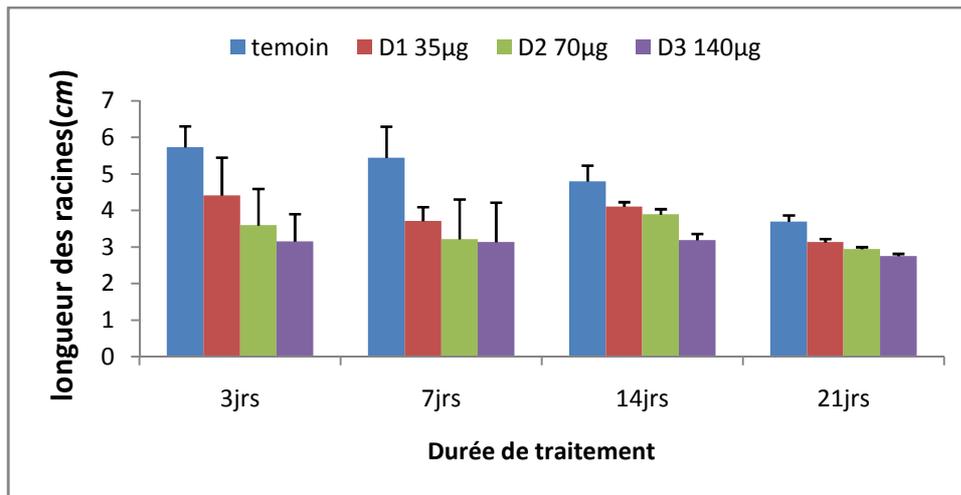


Figure 11: Effets du Calliofop 36 EC sur la longueur des racines (cm) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNETTE** indique pour la longueur des racines X_1 après 3 jours de traitement, que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identique au témoin D_0 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNETTE** révèle que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques à la dose témoin D_0 . Cependant après 14 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . (**Tab.02**)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour la longueur des racines après X_1 , qu'après 3 jours de traitement il existe deux groupes de doses ; Le premier groupe **A** : comprend la dose témoin D_0 et la dose D_1 et D_2 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 et D_3 , les doses D_1 et D_2 sont d'une part identiques à la dose témoin D_0 et la dose D_3 , mais d'une autre part les dose D_0 et D_3 sont différentes. Après 7 jours de traitement le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identique avec la doses témoin D_0 ; Cependant après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 , D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 , D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_2 et D_3 ; La dose D_1 est d'une part identique a la dose témoin D_0 et à D_2 ; d' autre part la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique à la dose D_3 , cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 . Après 21 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le

Paramètres biométriques

premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , et D_2 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et D_3 . La dose D_2 est identique d'une part à la dose D_1 et D_3 et d'autre part différente de la dose témoin D_0 . Les doses D_1 et D_3 sont différentes entre elles et différentes de la dose témoin D_0 . (Tab.02)

3.2.2 Effets du Calliofop 36EC sur le ratio matière fraîche et matière sèche (MF/MS) :

La figure (12) met en évidence les effets du calliofop 36EC sur la biomasse de *Lemna minor*, après une analyse de la variance ANOVA à un critère de Classification (dose). (Tab.02). On constate une diminution non significative ($P \geq 0,05$) des traités par rapport au témoin après 3 jours de traitement, cette et une diminution significative ($p \leq 0.05$) du ratio MF/MS par rapport au témoin après 7, et 14 jours de traitement, cette diminution est hautement significative ($p \leq 0.001$) par rapport au témoin après 21 jours de contact avec le Calliofop 36EC.

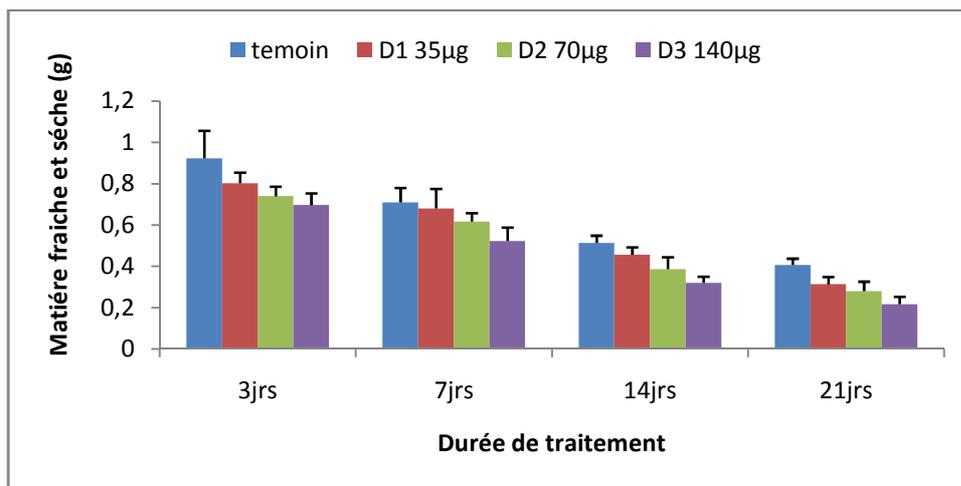


Figure 12 : Effets du Calliofop 36 EC sur le ratio MF /MS des feuilles (cm) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Concernant le ratio matière fraîche matière sèche MF/MS X_2 , le test de **DUNETTE** montre que après 3 jours de traitement, les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 . Après 7 jours de traitement, le test de **DUNETTE** E montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 , tandis qu'après 14 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que les doses D_0 et D_1 sont identiques entre elles et différentes des doses D_2 et D_3 . Après 21 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . (Tab.02)

Paramètres biométriques

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour le ratio matière fraîche matière sèche MF/MS X_2 , après 3 jours de traitement l'existence d'un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec la doses témoin D_0 . Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents : le premier groupe **A** : comprend les doses D_0 , D_1 et D_2 , le deuxième groupe **B** : se compose des doses D_2 et D_3 . La dose D_3 est identique à la dose D_2 et différente des doses D_1 et la dose témoin D_0 quoi que ces deux dernières sont identiques à la dose D_2 et, après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 , D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 , D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_2 et D_3 , la dose D_1 est d'une part identique à la dose témoin D_0 et D_2 , d'une autre part la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique à la dose D_3 . Cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 . Après 21 jours de traitement, Le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents le premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 , D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé de la dose D_3 . Les doses D_1 et D_2 sont identiques et différentes de la dose D_3 et de la dose témoin D_0 . (**Tab.02**)

- **Discussion**

Dans ce chapitre nous nous proposons de procéder à une discussion générale des principaux résultats obtenus dans cette partie, qui traite les variations du Calliofop 36EC sur les paramètres biométriques des deux macrophytes étudiées : *Elodea canadensis* et *Lemna minor*, celles-ci sont traitées par l'herbicide à des concentrations différentes de l'ordre de 35, 70 et 140 μg de Calliofop 36EC. Les paramètres mis en évidence sont la longueur moyenne des feuilles (LMF), la longueur moyenne des tiges (LMT), la longueur moyenne des racines (LMR), et le ratio matière fraîche matière sèche (MF/MS).

Les plantes piègent les radicaux libres et peroxydes en induisant plusieurs enzymes antioxydantes, y compris un certain nombre de métabolites (**Scandalios, 2002; Clijsters et al., 1999; Mittler, 2002**). Les plantes, exposées à des doses toxiques de pesticides, induisent des enzymes antioxydantes, un mécanisme bien démontré de protection pour minimiser les dommages oxydatifs cellulaires (**Aust et al., 1985; Mazhoudi et al., 1997; Mittler, 2002**).

Depledge et Rainbow, (1990) considèrent que la charge corporelle totale dans un organisme n'est pas une approche suffisante pour localiser et prédire les effets toxiques, car

Paramètres biométriques

la toxicité peut être influencée par la distribution du contaminant dans les différents tissus. Cette approche a surtout été utilisée pour relier les concentrations corporelles critiques avec des effets biologiques (physiologiques, biochimiques, moléculaires.....)

Le diclofop methyl qui est la matière active du Calliofop 36 EC , est un produit herbicide qui agit par voie systémique dans la plante, dont il perturbe la physiologie, en inhibant la synthèse des pigments. En effet, il est signalé dans la littérature que cet herbicide exerce une phytotoxicité sur les feuilles de certaines cultures (**Binet, 1989**).

La qualité de la croissance peut indiquer l'existence d'un effet délétère causé par le xénobiotique (**Stratton et al., 1979**) et ce paramètre peut être un moyen pour déterminer les effets des herbicides sur les organismes aquatiques.

Une réduction de la longueur moyenne des tiges (LMT) chez *Elodea canadensis* est notée suite à l'exposition à l'herbicide. Cette réduction est démontrée par **Fairchild et al., (1997)** qui trouvent peu de différences notables, sur la croissance pour toutes les espèces testées au cours de ces travaux (algues vertes) , ceci peut s'expliquer par le fait que le système continu à produire de l'ATP et permet à l'organisme de survivre malgré le blocage du transport des électrons.

Le Calliofop 36EC a un effet inhibiteur sur la croissance des racines de la lentille d'eau « *Lemna minor* » , selon **Ôncel et al.,(2000)** cette diminution s'expliquerait par le fait que la croissance de la plante est fonction de l'extensibilité de la paroi cellulaire, la conductivité de l'eau, le potentiel osmotique, le seuil de turgescence et d'autres facteurs abiotiques ou biotiques .

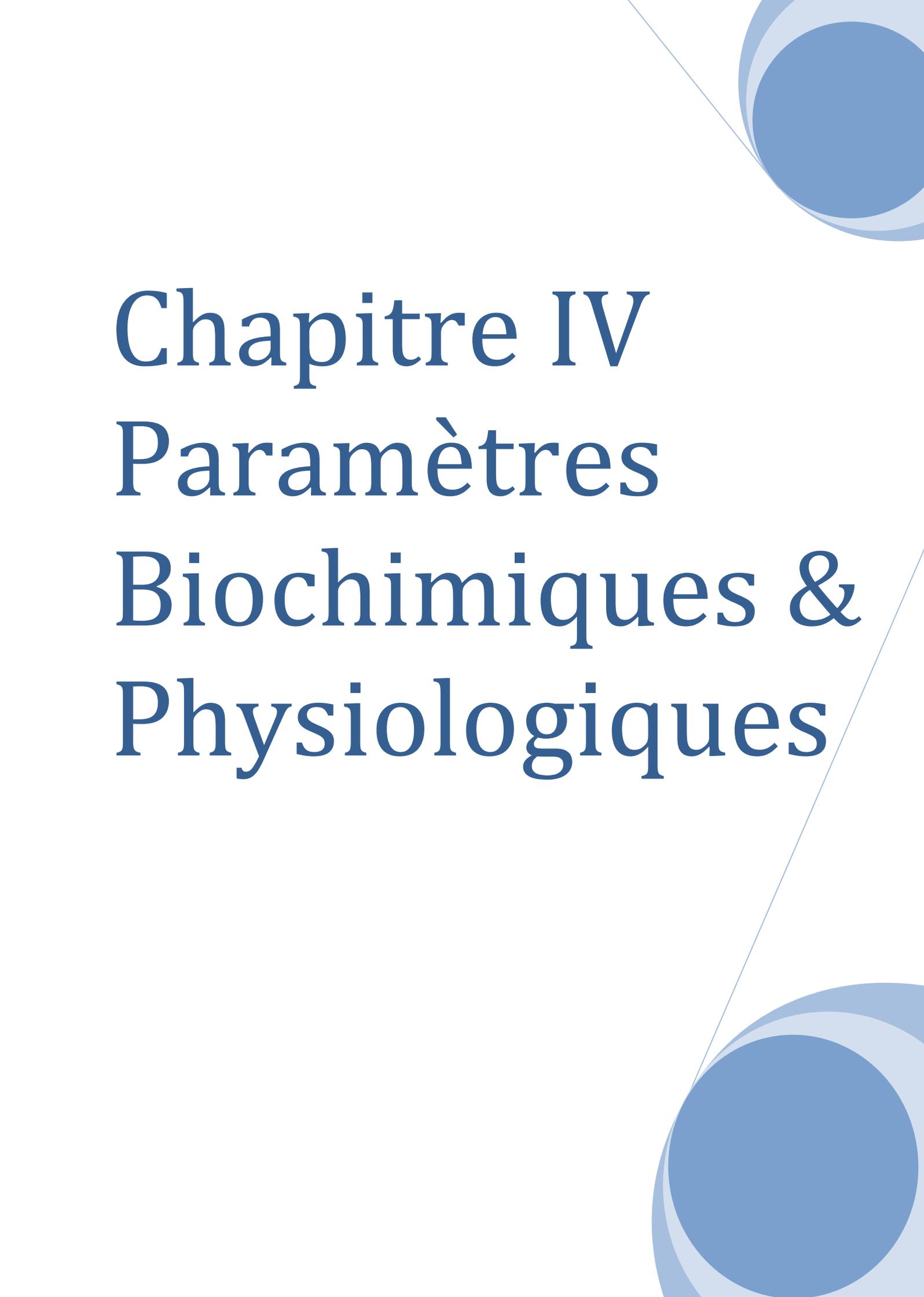
Kelly et al., (1979) ont constaté que l'allongement racinaire est affecté négativement en fonction de concentrations croissantes en Cadmium. De plus, de part les travaux sur le chêne, **Epron et al.,(1999)** ont déduit que les traitements salins modérés et élevés pouvaient altérer fortement l'élongation des racines. Ceci montre que ce paramètre est un très bon indicateur/ biomarqueur de la pollution.

Paramètres biométriques

Les résultats obtenus montrent que le traitement au Calliofop 36EC réduit sensiblement le ratio MF/MS des plantes « *Elodea Canadensis* et *Lemna minor* ». Nos résultats appuient ceux obtenus par **Leita et al., (1991)** et **Djebali et al., (2002)** qui indiquent une baisse considérable de la croissance pondérale dès les plus faibles concentrations de xénobiotiques.

- **Conclusion**

Au terme de ce chapitre, nous pouvons conclure que nos plantes aquatiques, *Elodea canadensis* et *Lemna minor* sont sensibles à la présence de l'herbicide Calliofop 36EC, cette sensibilité s'est manifestée par une perturbation des paramètres biométriques, mesurés durant notre travail. Ceci se traduit par une diminution de la longueur moyenne des feuilles (LMF), et de la longueur moyenne des tiges (LMT) et d'une baisse du ratio (MF/MS) chez *Elodea canadensis*, chez *L. minor* il est constaté une inhibition de la longueur moyennes des racine (LMR) accompagnée par une réduction du ratio (MF/MS). Ces effets toxiques observés sont dose dépendants et les résultats sont significatifs, ceci est confirmé par l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose).



Chapitre IV

Paramètres Biochimiques & Physiologiques

Introduction

Depuis les années 40, l'application d'herbicides de synthèse s'est avérée être la solution la plus efficace et la plus rapide pour contrôler les espèces de mauvaises herbes dans les cultures (**Preston et Powles, 1998**). En 2000, le marché mondial des herbicides représentait près de 15 milliards de dollars US, soit 40% des ventes de produits pesticides ; le tiers du marché mondial des herbicides correspondant aux herbicides anti-graminées (**Brown, 2001**).

Cependant l'application répétée d'herbicides constitue une pression de sélection, qui conduit à la sélection de résistances chez les mauvaises herbes, d'autant plus lorsque les herbicides appliqués ont le même mode d'action.

L'évolution des résistances sélectionnées est influencée par différents facteurs génétiques tels que la fréquence initiale des gènes de résistance ou encore la dominance de la résistance (**Jasieniuk et al., 1996**). Depuis les années 70, le nombre de cas de résistance aux herbicides n'a cessé d'augmenter et on compte actuellement, dans le monde, plus de 180 espèces d'adventices présentant des plantes résistantes à au moins un herbicide (**Heap, 2007**). La résistance aux herbicides représente donc une menace sérieuse pour le contrôle des mauvaises herbes et la production agricole.

- **Le potentiel épuratoire des plantes aquatiques**

Les végétaux aquatiques ont montré leur efficacité dans l'élimination de polluants organiques comme les phénols, les composés organochlorés et organophosphorés, les chlorobenzènes, et même les pesticides (**Dhir et al., 2009**). Concernant ces derniers, les rendements d'épuration à l'aide de plantes aquatiques sont variables, de 20 à 95 %, selon les propriétés physico-chimiques des molécules et le type de plantes (**Rice et al., 1997 ; Gao et al., 2000 ; Mitsou et al., 2006 ; Tront et Saunders, 2006 ; De Carvalho et al., 2007 ; Cai et al., 2007**). Les plantes aquatiques paraissent donc avoir un fort potentiel dans le processus de phytoremédiation des pesticides. Concernant le prélèvement et le transport des pesticides chez les végétaux, peu de travaux ont été réalisés, au regard de ceux conduits sur les métaux lourds. Cependant, depuis quelques années ces travaux se multiplient et montrent des résultats prometteurs (**Gao et al., 2000 ; Schröder et al., 2002 ; Susurla et al., 2002 ; Campos et al., 2008 ; Reichenauer et Germida, 2008 ; Gerhardt et al., 2009**).

Paramètres biochimiques et physiologiques

Ces polluants organiques prélevés sont transformés en composés moins toxiques voire totalement minéralisés en dioxyde de carbone, nitrate, chlore ou ammonium (**Cunningham *et al.*, 1996 ; Meagher, 2000**). L'extraction des pesticides par les plantes va dépendre des propriétés physico-chimiques de la molécule active, de son mode d'application, des caractéristiques du milieu, des facteurs climatiques et du type de plante. Il faut, dans l'idéal, des plantes à l'activité photosynthétique intense, hypertolérante, hyperaccumulatrice, avec une translocation et un stockage à taux élevé, une extraction rapide et un système foliaire et racinaire développé (**Chaudhry *et al.*, 2002**).

- **Mécanismes d'adaptation des plantes au stress**

- **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. (**Thripathi 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 (**Slyter, 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**).

- 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., 2005**). 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 comme, **Bellinger et al., (1991)** proposent 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'ornitine (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 céto-glutarate 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 ($_1$ -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 ($_1$ - 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**).

- Les sucres

Quant aux sucres ils 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

Paramètres biochimiques et physiologiques

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.

Paramètres biochimiques et physiologiques

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**).

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).

1. Objectif du travail

L'objectif de ce chapitre est d'étudier les effets du Calliofop 36EC sur :

a) Les paramètres biochimiques :

- * Les protéines totales.
- * Les sucres totaux.
- * La proline.

Paramètres biochimiques et physiologiques

b) Les paramètres physiologiques :

- * La chlorophylle *a*
- * La chlorophylle *b*
- * La chlorophylle *a+b*

2. Analyse statistique des résultats

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique grâce au logiciel Minitab 16. Les données sont représentées par la moyenne plus ou moins l'écart type ($m \pm SD$). Une analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) est effectuée. Les moyennes ont été comparées par le test de TUKEY et DUNETTE. Le seuil de signification est $\alpha \leq 0.05$ (Dagnelie, 1999).

3. Résultats

Dans cette partie nous présentons les principaux résultats obtenus concernant les essais réalisés au laboratoire. Les paramètres mesurés sont les paramètres biochimiques : les protéines totales, les sucres totaux, la proline, et comme paramètre physiologique : la chlorophylle (*a*, *b* et *a+b*).

3.1 Effets du Calliofop 36EC sur les paramètres biochimiques

3.1.1 *Elodea canadensis*

Paramètres biochimiques et physiologiques

Tableau 03 : Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY concernant les paramètres biochimiques des feuilles de *Elodea canadensis*, après 3, 7, 14 et 21 jours de traitement, par le Calliofop 36EC. (D₀ témoin, D₁=35µg, D₂= 70µg, D₃= 140 µg).

Variables	ddl	SCE	CM	Fobs	P	Dunette	Tukey
X ₄ -3jour	3	30,2685	10,0895	26,55	0,001 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ ,D ₁ (A), D ₂ ,D ₃ (B)
X ₄ -7jour	3	19,7165	6,5722	17,49	0,002 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B),D ₂ (A,B,C), D ₃ (B,C)
X ₄ -14jour	3	1663,49	554,50	8849,59	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B),D ₂ (C), D ₃ (D)
X ₄ -21jour	3	200,718	66,906	285,75	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B),D ₂ (C), D ₃ (D)
X ₅ -3jour	3	0,443422	0,147807	36,58	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ (B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₅ -7jour	3	1,23847	0,41282	7,80	0,017 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B) , D ₂ ,D ₃ (B)
X ₅ -14jour	3	0,43363	0,14454	9,18	0,012 **	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A), D ₃ (B)
X ₅ -21jour	3	0,64989	0,21663	15,61	0,003 **	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (B)
X ₆ -3jour	3	0,352492	0,117497	25,01	0,001 ***	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A), D ₃ (B)
X ₆ -7jour	3	0,073892	0,024631	6,11	0,030 *	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ (A,B) , D ₃ (B)
X ₆ -14jour	3	0,096867	0,032289	12,93	0,005 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B) , D ₂ ,D ₃ (B)
X ₆ -21jour	3	1,37689	0,45896	92,46	0,000 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ ,D ₁ (A), D ₂ (B),D ₃ (C)

X₄ : protéines**X₅ : glucides****X₆ : proline****a) Effets du Calliofop 36EC sur la teneur en protéines totales**

La figure (13), représente les effets du Calliofop 36EC sur la teneur en protéines totales chez *Elodea Canadensis*. L'analyse statistique ANOVA réalisé selon le critère dose, révèle une augmentation hautement significative en protéines totales ($p \leq 0.001$) par apport au témoin après 3, 14 et 21 jours de traitement, et une augmentation très significative ($p \leq 0.01$) par apport au témoin après 7 jours de traitement par la molécule Calliofop 36EC. (Tab.03)

Paramètres biochimiques et physiologiques

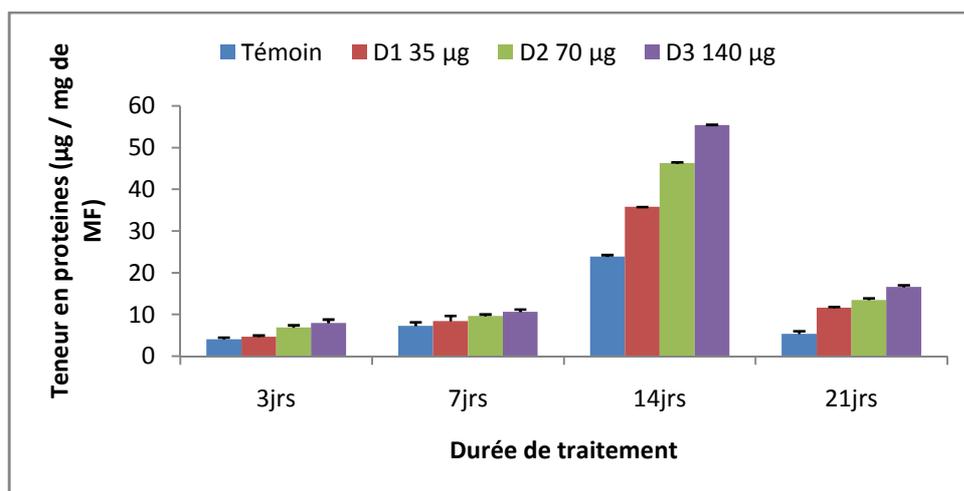


Figure 13 : Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en protéines totales ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNETTE** indique pour les protéines totales X_4 , après 3 jours de traitement les doses D_0 et D_1 sont identiques entre elles et différentes des doses D_2 et D_3 . Après 7 jours de traitement, les doses D_0 et D_1 sont identiques entre elles et différentes des doses D_2 et D_3 ; Après 14 jours de traitement la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 , et après 21 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . (**Tab.03**)

Le test de classement des groupes homogènes **HSD** de **TUKEY** nous a révélé pour les protéines totales X_4 , après 3 jours de traitement, deux groupes différents : le premier groupe **A** : contient les doses : D_0 , D_1 et le deuxième groupe **B** : se compose des doses : D_2 et D_3 , les deux groupes sont parfaitement séparés, la dose D_1 est identique à la dose témoin D_0 et différente des doses D_2 et D_3 , ces deux dernières sont identiques entre elles et différentes des doses D_0 et D_1 . Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents le premier groupe **A** : se compose des doses D_0, D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1, D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_2 et D_3 , la dose D_1 est d'une part identique a la dose témoin D_0 et à D_2 , d'autre part la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique a la dose D_3 cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 , tandis qu'après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence quatre groupes différents : le premier groupe **A** : contient la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et le quatrième groupe **D** : contient la dose D_3 , les quatre groupes sont parfaitement séparés

Paramètres biochimiques et physiologiques

chaque dose est différente des trois autres doses et n'est identique à aucune d'entre elles. Après 21 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence quatre groupes différents : le premier groupe **A** : contient la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et le quatrième groupe **D** : contient la dose D_3 , les quatre groupes sont parfaitement séparés, chaque dose est différente des trois autres doses et n'est identique à aucune d'entre elles. (**Tab.03**)

b) Effets du Calliofop 36EC sur la teneur en sucres totaux

Chez *E. Canadensis* à trois jours de traitement on remarque une augmentation en sucres totaux hautement significative ($p \leq 0.001$) des traités par rapport au témoin. A 7, 14, et 21 jours de traitement on remarque une augmentation en sucres totaux très significative ($p \leq 0.01$), des traités par rapport au témoin (figure 14). Ce résultat est confirmé par l'analyse statistique de la variance ANOVA, AV1 (dose). (**Tab.03**)

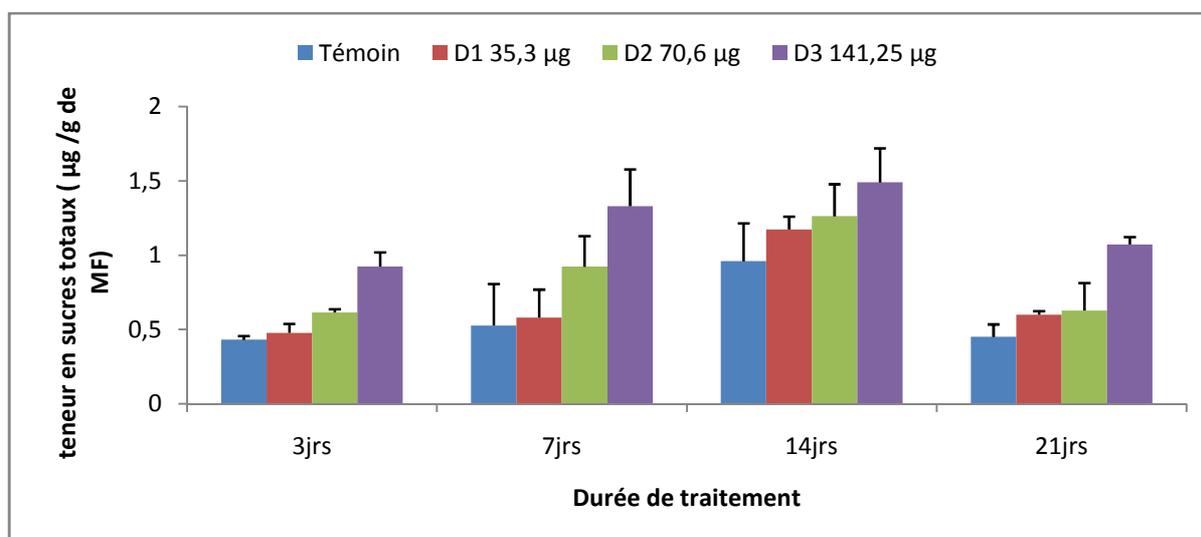


Figure 14 : Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en glucides ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n=3$)

Le test de DUNETTE indique pour les sucres totaux X_5 , après 3 jours de traitement que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . Après 7 jours de traitement les doses D_0 et D_1 sont identiques entre elles et différentes des doses D_2 et D_3 . Après 14 jours de traitement, le test de DUNETTE montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de

Paramètres biochimiques et physiologiques

DUNETTE indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . (**Tab.03**).

Le test de classement, des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour les sucres totaux, après 3 jours de traitement, trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , et D_2 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et D_3 , la dose D_2 est identique d'une part à la dose D_1 et D_3 et d'autre part différente de la dose témoin D_0 , les dose D_1 et D_3 sont différentes entre elles et différentes de la dose témoin D_0 . Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : comprend les doses D_1 , D_2 et D_3 . La dose D_1 est identique à la dose témoin D_0 et au doses D_2 et D_3 , quoique ces deux dernières sont différentes à la dose témoin D_0 ; Après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents : le premier groupe **A** : contient les doses D_0 , D_1 , et D_2 , le deuxième groupe **B** : comprend la dose D_3 , les doses du premier groupe **A** : D_0, D_1, D_2 sont identiques et différente de la dose D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents : le premier groupe **A** : contient la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : comprend les doses D_1, D_2 et D_3 , ces dernières sont identiques entre elles et différentes de la dose témoin D_0 du premier groupe. (**Tab.03**).

c) Effets du Calliofop 36EC sur la teneur en proline

Après 3, et 21 jours de traitement la figure (15), met en évidence une augmentation hautement significative ($p \leq 0.001$) en proline comparativement au témoin chez *Elodea canadensis*, après 7 jours de traitement, on constate une augmentation significative ($p \leq 0.05$) de la teneur en proline par rapport au témoin, cette augmentation est très significative ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin après 14 jours de contamination par le Calliofop 36EC. Ces résultats sont confirmés par l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (**Tab.03**).

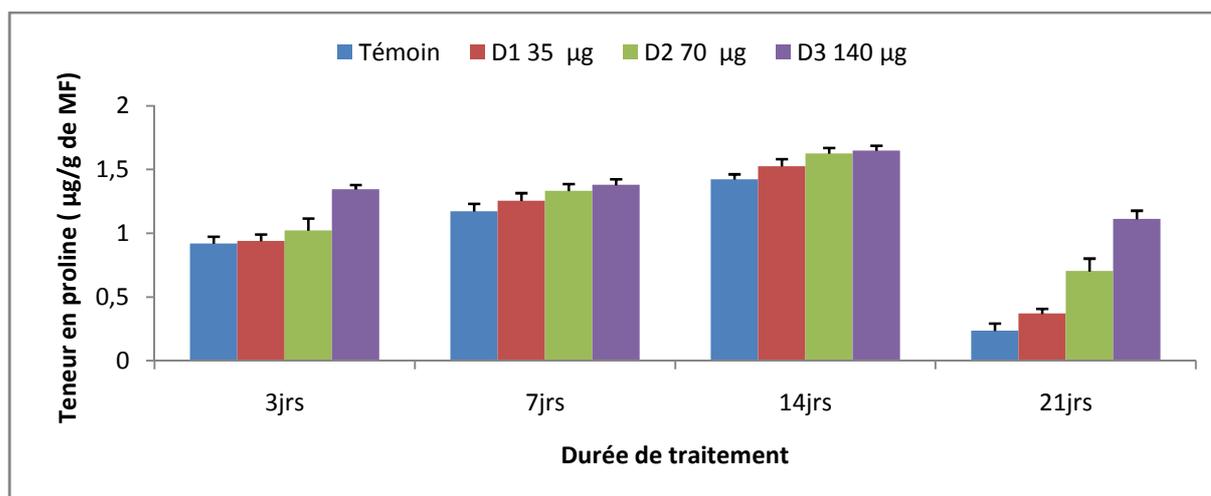


Figure 15: Effets du Calliofop 36 EC sur le taux en proline ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNETTE** indique pour la teneur en proline X_6 , après 3 jours de traitement que la dose témoin D_0 est identique aux doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNETTE** montre que le dose témoin D_0 est identique aux doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 ; Cependant après 14 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que les doses D_0 et D_1 sont identiques entre elles et différentes des doses D_2 et D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que les doses D_0 et D_1 sont identiques entre elles et différentes des doses D_2 et D_3 . (**Tab.03**).

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY**, nous a révélé pour la teneur en proline X_6 , après 3 jours de traitement deux groupes différents : le premier groupe **A** : contient les doses D_0 , D_1 , et D_2 , le deuxième groupe **B** : comprend la dose D_3 , les doses du premier groupe **A** « D_0, D_1, D_2 » sont identiques et différente de la dose D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes de doses, le premier groupe **A** : comprend la dose témoin D_0 et la dose D_1 et D_2 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 et D_3 , les doses D_1 et D_2 sont d'une part identiques à la dose témoin D_0 et à la dose D_3 mais, d'autre part les dose D_0 et D_3 sont différentes, tandis qu'après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : comprend les doses D_1 , D_2 et D_3 . La dose D_1 est identique à la doses témoin D_0 et au doses D_2 et D_3 , quoique ces deux dernières sont différentes à la dose témoin D_0 ; Après 21 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 la dose témoin et D_1 , le deuxième groupe **B** :

Paramètres biochimiques et physiologiques

contient la dose D₂, et le troisième groupe **C** : contient la dose D₃. La dose témoin est identique a la dose D₁ est différente des dose D₂ et D₃, ces deux dernières sont différente entre elles et différentes de la dose D₁. (**Tab.03**).

3.1.2 *Lemna minor*

Tableau 04 : Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY concernant les paramètres biochimiques des feuilles de *Lemna minor* après 3, 7, 14 et 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D₀ témoin, D₁=35µg, D₂= 70µg, D₃= 140 µg).

Variables	ddl	SCE	CM	Fobs	P	Dunette	Tukey
X ₃ -3jour	3	14,2464	4,7488	230,06	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B), D ₂ ,D ₃ (C)
X ₃ -7jour	3	23,0183	7,6728	1982,91	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B) ,D ₂ (C), D ₃ (D)
X ₃ -14jour	3	22,7778	7,5926	867,17	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B), D ₂ (C), D ₃ (D)
X ₃ -21jour	3	8,0749	2,6916	185,77	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B), D ₂ (C), D ₃ (D)
X ₄ -3jour	3	31,4526	10,4842	907,50	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B), D ₂ (C), D ₃ (D)
X ₄ -7jour	3	43,2588	14,4196	1217,70	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B), D ₂ ,D ₃ (C)
X ₄ -14jour	3	47,8419	15,9473	1895,98	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B), D ₂ ,D ₃ (C)
X ₄ -21jour	3	45,3416	15,1139	225,02	0,000***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ ,D ₁ (A), D ₂ (B),D ₃ (C)
X ₅ -3jour	3	0,006226 7	0,002075 6	26,28	0,001 ***	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ D ₁ D ₂ (A), D ₃ (B),
X ₅ -7jour	3	0,045174	0,015058	16,92	0,002 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₅ -14jour	3	0,050425	0,016808	8,66	0,013 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₅ -21jour	3	0,000987 7	0,000329 2	15,95	0,003 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)

X₃ : protéines X₄ : glucides X₅ : proline

a) Effets du Calliofop 36EC sur la teneur en protéines totales

La figure (16) illustre les effets du Calliofop 36EC sur la teneur en protéines totale chez la lentille d'eau *Lemna minor*, l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) tableau 04, montre une augmentation de la production des protéines totales hautement significative ($p \leq 0.001$) par rapport au témoin après 3,7, 14 et 21 jours de traitement. (Tab.04)

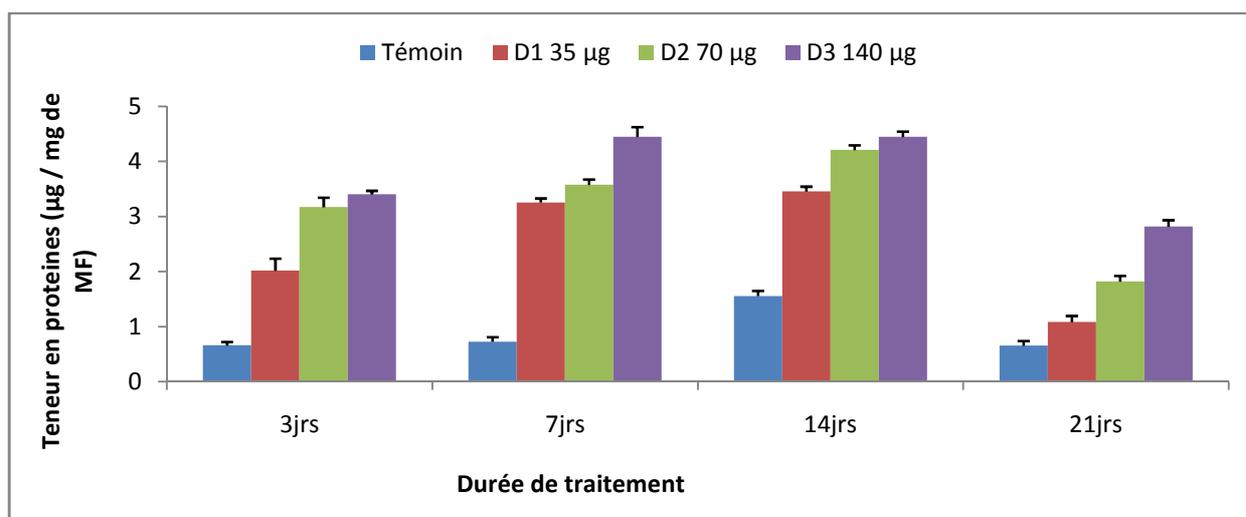


Figure 16 : Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en protéines totales ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNETTE** indique pour le taux des protéines totales X_3 , après 3 jours de traitement que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 , par contre à 14 jours de traitement, Le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . (Tab.04)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour le taux des protéines totales X_3 , après 3 jours de traitement, trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose de la dose D_0 la dose témoin, le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , et le troisième groupe **C** : contient les doses D_2 et D_3 . Les doses D_2 et D_3 sont identiques entre elles et différentes de la dose témoin et la dose D_1 qui sont différentes entre elles ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence quatre

Paramètres biochimiques et physiologiques

groupes différents le premier groupe **A** : contient la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et le quatrième groupe **D** : contient la dose D_3 , les quatre groupes sont parfaitement séparés chaque dose est différente des trois autres doses et n'est identique à aucune d'entre elles ; Cependant, après 14 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence quatre groupes différents : le premier groupe **A** : contient la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et le quatrième groupe **D** : contient la dose D_3 , les quatre groupes sont parfaitement séparés chaque dose est différente des trois autres doses et n'est identique à aucune d'entre elles ; Après 21 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence quatre groupes différents : le premier groupe **A** : contient la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et le quatrième groupe **D** : contient la dose D_3 , les quatre groupes sont parfaitement séparés, chaque dose est différente des trois autres doses et n'est identique à aucune d'entre elles. (Tab.04)

b) Effet du Calliofop 36 EC sur le taux des sucres totaux

La figure (17) met en évidence les effets du Calliofop 36EC sur la teneur en sucres totaux de la lentille d'eau : *Lemna minor*. L'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose), (Tab.04), révèle une augmentation hautement significative ($p \leq 0.001$) des traités par rapport au témoin. À 3,7, 14 et 21 jours de traitement.

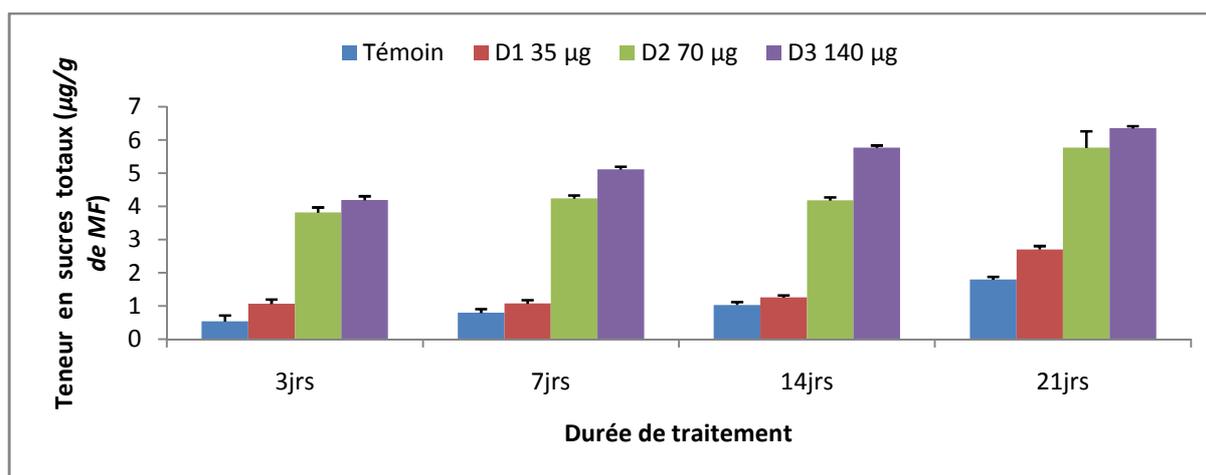


Figure 17 : Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en glucides ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Paramètres biochimiques et physiologiques

Le test de **DUNETTE** indique pour la teneur en glucides **X₄** après 3 jours de traitement, que la dose témoin **D₀** est différente des trois autres doses **D₁**, **D₂** et **D₃**. Après 7 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin **D₀** est différente des trois autres dose **D₁**, **D₂** et **D₃**; Après 14 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin **D₀** est différente des trois autres dose **D₁**, **D₂** et **D₃**; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que les doses **D₀** et **D₁** sont identiques entre elles et différentes des doses **D₂** et **D₃**. (**Tab.04**).

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour la teneur en glucides **X₄**, a mis en évidence après 3 jours de traitement, quatre groupes différents : le premier groupe **A** : contient la dose témoin **D₀**, le deuxième groupe **B** : contient la dose **D₁**, le troisième groupe **C** : contient la dose **D₂**, et le quatrième groupe **D** : contient la dose **D₃**, les quatre groupes sont parfaitement séparés chaque dose est différente des trois autres doses et n'est identique à aucune d'entre elles ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents le premier groupe **A** : se compose de la dose **D₀** la dose témoin, le deuxième groupe **B** : contient la dose **D₁**, et le troisième groupe **C** : contient les doses **D₂** et **D₃**. Les doses **D₂** et **D₃** sont identiques entre elles et différentes des doses, témoin **D₁** qui sont différentes entre elles ; Après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose de la dose **D₀** la dose témoin, le deuxième groupe **B** : contient la dose **D₁**, et le troisième groupe **C** : contient les doses **D₂** et **D₃**. Les doses **D₂** et **D₃** sont identiques entre elles et différentes des doses témoin et la dose **D₁** qui sont différentes entre elles ; Après 21 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents le premier groupe **A** : se compose des doses **D₀** la dose témoin et **D₁**, le deuxième groupe **B** : contient la dose **D₂**, et le troisième groupe **C** : contient la dose **D₃**. La dose témoin est identique a la dose **D₁** qui est différente des dose **D₂** et **D₃**, ces deux dernières sont différente entre elles et différentes de la dose **D₁**. (**Tab.04**).

c) **Effet du Calliofop 36 EC sur la teneur en proline** : La figure (18) indique :

- A 3 jours de traitement, une augmentation hautement significative ($p \leq 0.001$) des traités par apport au témoin chez *Lemna minor*. Alors qu'à 7,14, et 21 jours de traitement la figure indique, une augmentation très significative ($p \leq 0.01$) des traités par rapport au témoin, ces données sont confirmées par l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (**Tab.04**).

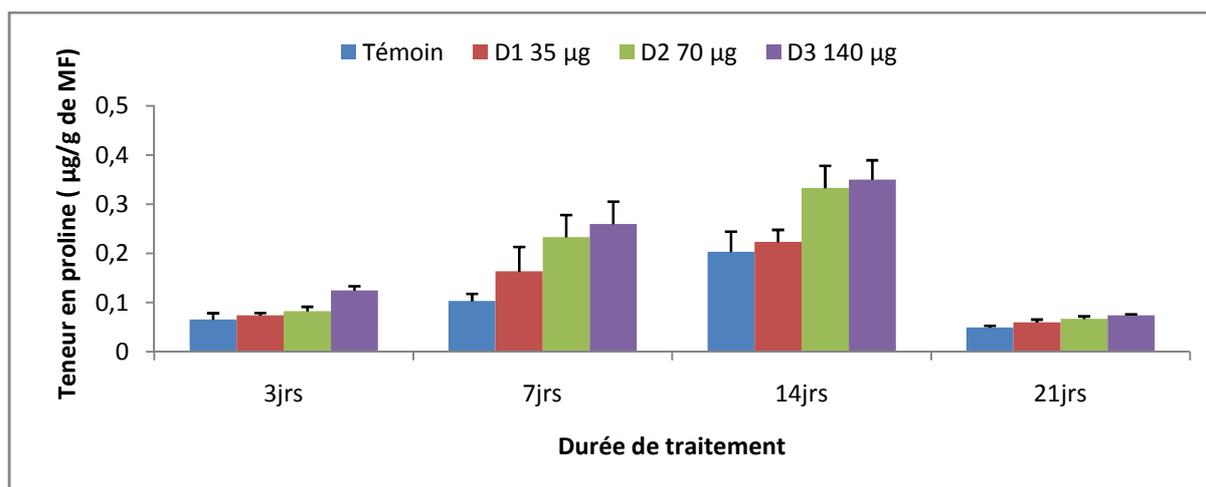


Figure 18 : Effets du Calliofop 36 EC sur le taux en proline ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNETTE** indique pour le taux en proline X_5 après 3 jours de traitement que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 7 jours de traitement , le test de **DUNETTE** indique que les doses D_0 et D_1 sont identiques entre elles et différentes des doses D_2 et D_3 ; Après 14 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que les doses D_0 et D_1 sont identiques entre elles et différentes des doses D_2 et D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que les doses D_0 et D_1 sont identiques entre elles et différentes des doses D_2 et D_3 . (**Tab.04**).

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour la teneur en proline X_5 , après 3 jours de traitement, de mettre en évidence deux groupes différents le premier groupe **A** : contient les doses D_0 , D_1 , et D_2 , le deuxième groupe **B** : comprend la dose D_3 , les doses du premier groupe **A** « D_0, D_1, D_2 » sont identiques et différentes de la dose D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0, D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1, D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_2 et D_3 , la dose D_1 est d'une part identique à la dose témoin D_0 et à D_2 , d'une autre part la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique à la dose D_3 ; Cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 ; Tandis qu' après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0, D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1, D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_2 et D_3 , la dose D_1 est d'une part identique à la dose témoin D_0 et à D_2 , d' autre part la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique a la dose D_3 cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 ; Après 21 jours de

Paramètres biochimiques et physiologiques

traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 , D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 , D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_2 et D_3 , la dose D_1 est d'une part identique à la dose témoin D_0 et à D_2 , d'autre part la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique à la dose D_3 , cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 . (**Tab.04**).

3.2 Effets du Calliofop 36EC sur la physiologie des plantes

3.2.1 Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle (a,b ,a+b) en $\mu\text{g/g}$ de MF

a) *Elodea canadensis*

Tableau 05 : Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY concernant les paramètres physiologiques des feuilles de *Elodea canadensis* après 3, 7, 14 et 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D_0 témoin, $D_1=35\mu\text{g}$, $D_2= 70\mu\text{g}$, $D_3= 140 \mu\text{g}$).

Variables	ddl	SCE	CM	Fobs	P	Dunette	Tukey
X ₇ -3jour	3	2,09456	0,69819	8,29	0,015 **	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ ,D ₁ (A), D ₂ (A,B) D ₃ (B)
X ₇ -7jour	3	1,14357	0,38119	54,50	0,000 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A), D ₁ (A,B), D ₂ (B), D ₃ (C)
X ₇ -14jour	3	2,1943	0,7314	61,10	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B),D ₂ (C), D ₃ (D)
X ₇ -21jour	3	484,720	161,573	641,88	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B),D ₂ (C), D ₃ (D)
X ₈ -3jour	3	0,55180	0,18393	7,19	0,021 *	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ (A,B) , D ₃ (B)
X ₈ -7jour	3	2,52361	0,84120	38,30	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (B)
X ₈ -14jour	3	1,35855	0,45285	33,01	0,000 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A), D ₁ (A,B), D ₂ (B), D ₃ (C)
X ₈ -21jour	3	349,342	116,447	749,19	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B),D ₂ (C), D ₃ (D)
X ₉ -3jour	3	4,53607	1,51202	66,54	0,000 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ D ₁ (A), D ₂ (B) D ₃ (C)
X ₉ -7jour	3	5,6137	1,8712	34,80	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ (B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₉ -14jour	3	29,6562	9,8854	16,58	0,003 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B),D ₂ (A,B,C), D ₃ (B,C)
X ₉ -21jour	3	1332,80	444,27	702,40	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B),D ₂ (C), D ₃ (D)

X₇ : chlorophylle a X₈ : chlorophylle b X₉: chlorophylle a +b

- Effets du *Calliofop 36 EC* sur la teneur en chlorophylle (*a*) en $\mu\text{g/g}$ de MF

La figure (19), montre à 3 jours de traitement, le *Calliofop 36EC* entraîne une diminution très significative ($p \leq 0.01$) de la teneur en chlorophylle *a* des traités comparativement au témoin.

A 7, 14, et 21 jours de traitement cette diminution en chlorophylle *a* est hautement significative ($p \leq 0.001$), ces résultats sont confirmés par l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose). (**Tab.05**).

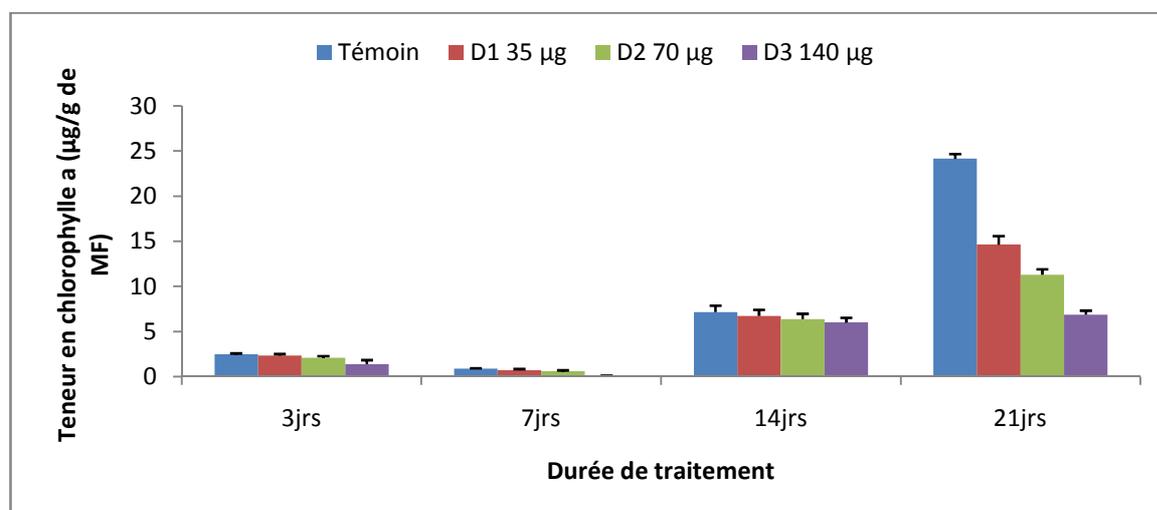


Figure 19: Effets du *Calliofop 36 EC* sur la teneur en chlorophylle *a* ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNETTE** indique pour la teneur en Chlorophylle *a* X_7 , après 3 jours de traitement, que le dose témoin D_0 est identique aux doses D_1, D_2 , et différente de la dose D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que les doses D_0 et D_1 sont identiques entre elles et différentes des doses D_2 et D_3 ; Cependant après 14 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres doses D_1, D_2 et D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres doses D_1, D_2 et D_3 . (**Tab.05**)

Le test de classement des groupes homogènes **HSD** de **TUKEY** nous a révélé pour la teneur en Chlorophylle *a* X_7 , après 3 jours de traitement deux groupes différents : le premier groupe **A** : comprend les doses D_0, D_1 et D_2 , le deuxième groupe **B** : se compose des doses D_2 et D_3 . La dose D_3 est identique à la dose D_2 et différente des doses D_1 et D_0 quoique ces deux dernières sont identiques à la dose D_2 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a

Paramètres biochimiques et physiologiques

permis de mettre en évidence trois groupes de doses, le premier groupe **A** : se compose des doses : D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les dose D_1 et D_2 , le troisième groupe **C** : est composé de la dose D_3 . La dose D_1 est identique à la dose D_0 et D_1 , en même temps elle est différente de la dose D_3 , cette dernière est différente des trois autre doses : D_0, D_1 , et D_2 ; Tandis qu' après 14 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence quatre groupes différents : le premier groupe **A** : contient la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et le quatrième groupe **D** : contient la dose D_3 , les quatre groupes sont parfaitement séparés chaque dose est différente des trois autres doses et n'est identique à aucune d'entre elles ; Après 21 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence quatre groupes différents : le premier groupe **A** : contient la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et le quatrième groupe **D** : contient la dose D_3 , les quatre groupes sont parfaitement séparés, chaque dose est différente des trois autres doses et n'est identique à aucune d'entre elles.(Tab.05)

- **Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle (b) en $\mu\text{g/g}$ de MF**

La figure (20) illustre les effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle *b* chez *Elodea canadensis*, L'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (Tab.06), montre une baisse de la teneur en chlorophylle *b*, à 3 jours de traitement on note une diminution significative ($p \leq 0.05$) des traités par rapport au témoin. A 7,14, et 21 jours de traitement la diminution en chlorophylle *b* est hautement significative ($p \leq 0.001$) comparativement au témoin.

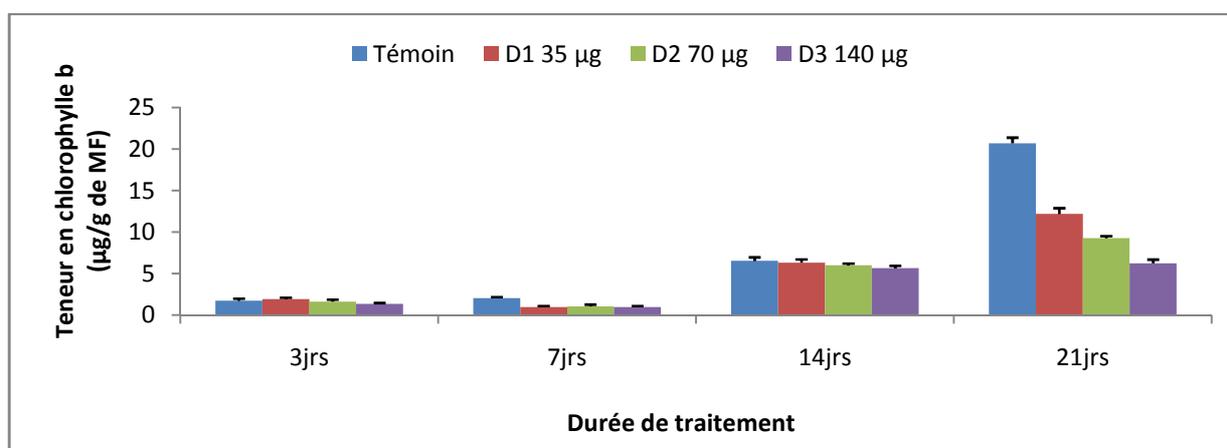


Figure 20 : Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle *b* ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Paramètres biochimiques et physiologiques

Le test de **DUNETTE** indique pour la teneur en Chlorophylle b X_8 , après 3 jours de traitement, le test de DUNETTE révèle que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques à la dose témoin D_0 ; Après 7 jours de traitement, le test de DUNETTE indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 ; Cependant, après 14 jours de traitement, le test de DUNETTE montre que le témoin D_0 est identique au doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 . Après 21 jours de traitement, le test de DUNETTE indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . (**Tab.05**)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour la teneur en Chlorophylle b X_8 , qu'après 3 jours de traitement, deux groupes de doses : le premier groupe **A** : comprend la dose témoin D_0 et la dose D_1 et D_2 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 et D_3 , les doses D_1 et D_2 sont d'une part identiques à la dose témoin D_0 et à la dose D_3 mais d'autre part les dose D_0 et D_3 sont différentes. Après 7 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence deux groupes de doses : le premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 , et D_3 ces doses sont identiques entre elles et différentes de la dose témoin D_0 . Après 14 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence trois groupes de doses : le premier groupe **A** : se compose des doses : D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les dose D_1 et D_2 , le troisième groupe **C** : est composé de la dose D_3 . La dose D_1 est identique à la dose D_0 et à D_1 , en même temps elle est différente de la dose D_3 , cette dernière est différente des trois autre doses : D_0 , D_1 , et D_2 ; Après 21 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence quatre groupes différents : le premier groupe **A** : contient la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et le quatrième groupe **D** : contient la dose D_3 , les quatre groupes sont parfaitement séparés chaque dose est différente des trois autres doses et n'est identique à aucune d'entre elles. (**Tab.05**)

- **Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle ($a+b$) en $\mu\text{g/g}$ de MF**

La figure (21) montre les effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle $a+b$ chez *Elodea canadensis*. Les résultats de l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose), (**Tab.05**), indiquent à 3,7, et 21 jours de traitement, une diminution hautement significative ($p \leq 0.001$) des traités par rapport au témoin de la teneur en chlorophylle $a+ b$; Après 14 jours de traitement, cette diminution est très significative ($p \leq 0.01$) des traités comparativement au témoin.

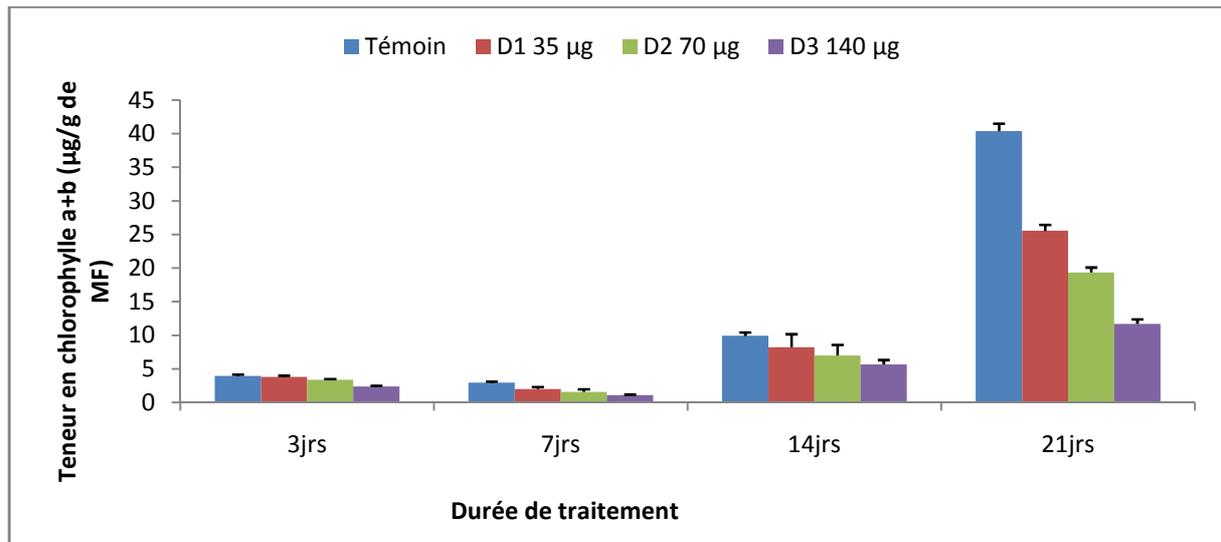


Figure 21 : Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle a+ b (µg /g de MF) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNETTE** indique pour la teneur en Chlorophylle a+ b X_9 , après 3 jours de traitement, que le témoin D_0 est identique au doses D_1 , D_2 , et différent de la dose D_3 . Après 7 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . Cependant, après 14 jours de traitement, le test de **DUNETTE** montre que le dose témoin D_0 est identique au doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres doses D_1 , D_2 et D_3 . (**Tab.05**)

Le test de classement des groupes homogènes **HSD** de **TUKEY** nous a révélé pour la teneur en Chlorophylle a+ b X_9 , après 3 jours de traitement, trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 (la dose témoin) et D_1 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_2 , et le troisième groupe **C** : contient la dose D_3 . La dose témoin est identique à la dose D_1 et différente des dose D_2 et D_3 , ces deux dernières sont différentes entre elles et différentes de la dose D_1 . Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 , et D_2 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et D_3 . La dose D_2 est identique d'une part à la dose D_1 et D_3 et d'autre part différente de la dose témoin D_0 , les dose D_1 et D_3 sont différentes entre elles et différentes de la dose témoin D_0 , tandis qu' après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a

Paramètres biochimiques et physiologiques

permis de mettre en évidence trois groupes différents le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 , D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 , D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_2 et D_3 , la dose D_1 est d'une part identique aux doses témoin D_0 et D_2 , d'autre part la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique a la dose D_3 , cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 . Après 21 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence quatre groupes différents : le premier groupe **A** : contient la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et le quatrième groupe **D** : contient la dose D_3 , les quatre groupes sont parfaitement séparés chaque dose est différente des trois autres doses et n'est identique a aucune d'entre elles. (Tab.05)

b) *Lemna minor*

Tableau 06 : Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY concernant les paramètres physiologiques des feuilles de *Lemna minor* après 3, 7, 14 et 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D_0 témoin, $D_1 = 35\mu\text{g}$, $D_2 = 70\mu\text{g}$, $D_3 = 140 \mu\text{g}$).

Variables	ddl	SCE	CM	Fobs	P	Dunette	Tukey
X ₆ -3jour	3	2177,76	725,92	20,63	0,001 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (B)
X ₆ -7jour	3	10639,9	3546,6	35,96	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (B)
X ₆ -14jour	3	49,863	16,621	5,18	0,042 *	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ (A,B) ,D ₃ (B)
X ₆ -21jour	3	1571,3	523,8	2,15	0,195 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₇ -3jour	3	6523,7	2174,6	13,86	0,004 **	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ (A,B),D ₂ ,D ₃ (B)
X ₇ -7jour	3	939,29	313,10	28,87	0,001 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ (B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₇ -14jour	3	175,85	58,62	4,66	0,052 *	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₇ -21jour	3	6095,4	2031,8	16,93	0,002 **	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B, C) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₈ -3jour	3	15484,0	5161,3	12,88	0,005 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A), D ₁ (A,B),D ₂ ,D ₃ (B)
X ₈ -7jour	3	14914,5	4971,5	47,74	0,000 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₈ -14jour	3	417,28	139,09	6,56	0,025 *	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ (A,B) ,D ₃ (B)
X ₈ -21jour	3	14351,2	4783,7	23,63	0,001 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ ,D ₂ (B,C),D ₃ (C)

X₆ : chlorophylle a ; X₇ : chlorophylle b ; X₈ : chlorophylle a+b

- **Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle (a) en $\mu\text{g/g}$ de MF**

La figure (22), montre les effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle *a* chez la lentille d'eau « *Lemna minor* ». L'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (**Tab.06**), indique une diminution hautement significative ($p \leq 0.001$) des traités par rapport au témoin après 3 et 7 jours de traitement. Cependant cette diminution de la teneur en chlorophylle *a* est significative ($p \leq 0.05$) comparativement au témoin après 14 jours de traitement par le Calliofop 36EC. A 21 jours de traitement la diminution, des traités par rapport au témoin, est non significative ($P \geq 0,05$).

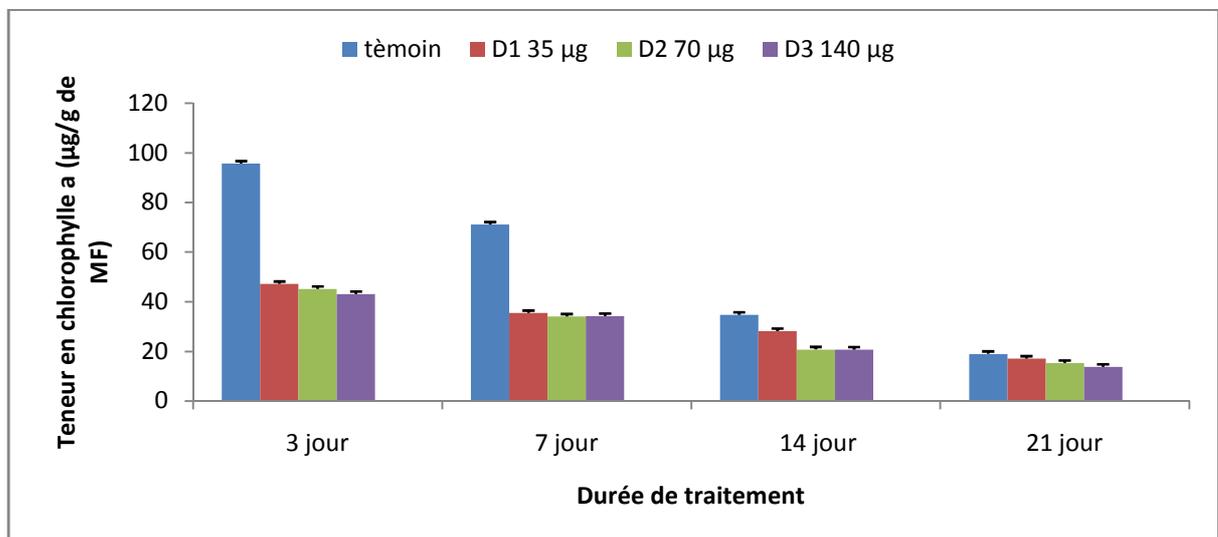


Figure 22 : Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle *a* ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNETTE** indique pour la teneur en Chlorophylle *a* X_6 , après 3 jours de traitement, que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . Après 7 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . Après 14 jours de traitement, le test de **DUNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 . Après 21 jours de traitement, le test de **DUNETTE** révèle que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identique a la dose témoin D_0 . (**Tab.06**).

Le test de classement des groupes homogènes **HSD** de **TUKEY** a révélé pour la teneur en Chlorophylle *a* X_6 , après 3 jours de traitement, deux groupes de doses : le premier groupe

Paramètres biochimiques et physiologiques

A : se compose de la dose témoin D_0 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 , et D_3 , ces doses sont identiques entre elles et différentes de la dose témoin D_0 . Après 7 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence deux groupes de doses, le premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 , et D_3 ces doses sont identiques entre elles et différentes de la dose témoin D_0 . Cependant, après 14 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence deux groupes de doses : le premier groupe **A** : comprend la dose témoin D_0 et les doses D_1 et D_2 , le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 et D_3 , les doses D_1 et D_2 sont d'une part identiques à la dose témoin D_0 et à la dose D_3 , mais d'autre part les doses D_0 et D_3 sont différentes. Après 21 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identique avec la doses témoin D_0 . (**Tab.06**).

- **Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle (b) en $\mu\text{g/g}$ de MF**

La figure (23), illustre les effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle *b* chez « *Lemna minor* ». A 3 et 21 jours de traitement on remarque une baisse très significative ($p \leq 0.01$) des traités par rapport au témoin avec effets dose réponse ; Après 14 jours de traitement. Aussi on note une diminution significative ($p \leq 0.05$) des traités par rapport au témoin. A 7 jours de traitement on remarque une diminution hautement significative ($p \leq 0.001$) des traités par rapport au témoin. Ceci est confirmé après l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (**Tab.06**).

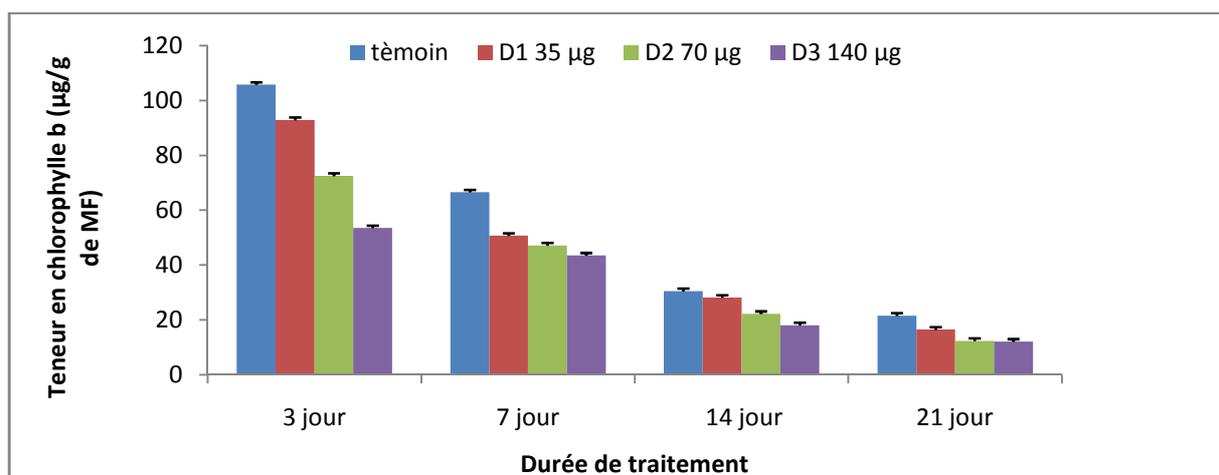


Figure 23: Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle *b* ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNETTE** indique pour la teneur en Chlorophylle *b* X_7 , après 3 jours de traitement, que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . Après 7 jours de traitement, le test de **DUNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . Après 14 jours de traitement, le test de **DUNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 . (**Tab.06**).

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour la teneur en Chlorophylle *b* X_7 , après 3 jours de traitement, deux groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : comprend les doses D_1 , D_2 et D_3 . La dose D_1 est identique à la doses témoin D_0 et aux doses D_2 et D_3 , quoique ces deux dernières sont différentes de la dose témoin D_0 . Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , et D_2 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et D_3 . La dose D_2 est identique d'une part à la dose D_1 et D_3 et d'autre part différente de la dose témoin D_0 , les doses D_1 et D_3 sont différentes entre elles et différentes de la dose témoin D_0 ; Après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec la doses témoin D_0 . Après 21 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 , D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 , D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_1 , D_2 et D_3 , la dose D_1 est identique à la dose D_2 et D_3 et à la doses témoin D_0 , tandis que les doses D_2 et D_3 sont identiques mais différentes de la dose témoin D_0 . (**Tab.06**).

- **Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle (*a+b*) en $\mu\text{g/g}$ de MF**

La figure (24) mis en évidence les effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle *a+ b* chez les feuilles de la lentille d'eau : « *Lemna minor* ». A 3 jours de traitement on constate une diminution de la teneur chlorophyllienne des feuilles très significative ($p \leq 0.01$) des traités par apport au témoin. A 7 et 21 jours de traitement la diminution est significative ($p \leq 0.05$) des traités par apport au témoin, à 14 jours de traitement la diminution en chlorophylle *a+ b* est hautement significative ($p \leq 0.001$)

Paramètres biochimiques et physiologiques

comparativement au témoin après. Ces résultats sont confirmés par l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (**Tab.06**).

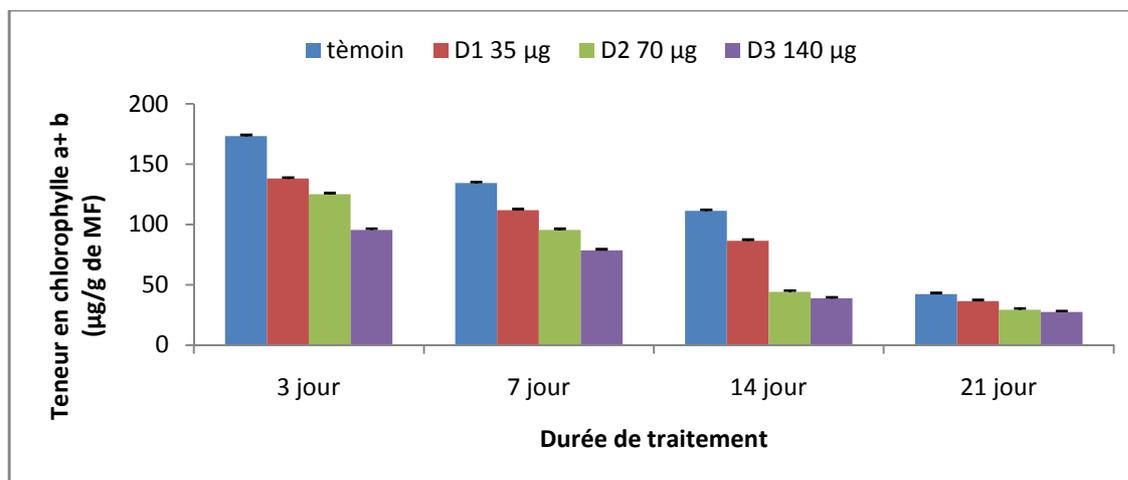


Figure 24 : Effets du Calliofop 36 EC sur la teneur en chlorophylle $a+b$ ($\mu\text{g/g}$ de MF) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$)

Le test de **DUNETTE** indique pour la teneur en Chlorophylle $a+b$, X_8 après 3 jours de traitement, le test de DUNETTE montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 . Après 7 jours de traitement, le test de DUNETTE montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; A 14 jours de traitement, le test de DUNETTE montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de DUNETTE indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . (**Tab.06**).

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour la teneur en Chlorophylle $a+b$ X_8 , après 3 jours de traitement, deux groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : comprend les doses D_1 , D_2 et D_3 . La dose D_1 est identique à la doses témoin D_0 et aux doses D_2 et D_3 quoique ces deux dernières sont différentes de la dose témoin D_0 . Après 7 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence trois groupes de doses : le premier groupe **A** : se compose des doses : D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les dose D_1 et D_2 , le troisième groupe **C** : est composé de la dose D_3 . La dose D_1 est identique à la dose D_0 et D_1 , en même temps elle est différente de la dose D_3 , cette dernière est différente des trois autre

Paramètres biochimiques et physiologiques

doses : D_0 , D_1 , et D_2 . Cependant, après 14 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence deux groupes de doses : le premier groupe **A** : comprend la dose témoin D_0 et les doses D_1 et D_2 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 et D_3 , les doses D_1 et D_2 sont d'une part identiques à la dose témoin D_0 et à la dose D_3 ; Mais d'autre part les dose D_0 et D_3 sont différentes, tandis qu' après 21 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , et D_2 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_1 , D_2 , et D_3 . La dose D_1 est identique d'une part à la dose D_2 et D_3 et d'autre part ces trois doses D_1 , D_2 et D_3 sont différentes de la dose témoin D_0 . (Tab.06).

- **Discussion**

Dans cette partie de notre travail, nous avons étudié la réponse biologique de notre modèle végétal à savoir *Elodea canadensis* et *Lemna minor* vis-à-vis de l'hérbicide le « Calliofop 36EC » d'un point de vue purement biochimimique et physiologique.

Nous avons déterminé les effets du Calliofop 36EC sur : la biochimie des deux plantes aquatiques *Elodea canadensis* et *Lemna minor* à savoir : la teneur en protéines totales, la teneur en sucres totaux, la teneur en proline ; la physiologie des deux macrophytes à savoir la chlorophylle *a*, *b*, et *a+b* durant quatre durées de traitement 3, 7, 14, et 21 jours les doses appliqueés sont : 35 μ g, 70 μ g et 140 μ g .

Le diclofop methyl est un produit herbicide qui agit par voie systémique dans la plante ou il perturbe la physiologie de celle ci, en inhibant la synthèse des pigments. En effet, il est signalé dans la littérature que cet herbicide exerce une phytotoxicité sur les feuilles de certaines cultures et peut provoquer un effet très marqué sur la synthèse de nombreux métabolites physiologiques et Biochimiques car il est difficilement hydrolysable dans les tissus, sa dégradation dépend du pH du milieu (Binet, 1989).

Les résultats des dosages des protéines totales par le Callifop 36EC chez *Elodea Canadensis* et *Lemna minor* mettent en évidence, une augmentation très significative des taux de protéines, qui laisse suggérer une disponibilité des protéines dans les tissus foliaires pouvant essentiellement être utilisé dans le développement de processus de reproduction (Rodrigues et al., 2011). De ce fait, la stimulation du taux des protéines enregistrée au niveau des deux plantes, traduit l'existence des protéines, synthétisées lors du stress généré

Paramètres biochimiques et physiologiques

par les xénobiotiques et/ou métaux lourds, existant éventuellement dans les milieux hydriques expérimentaux, tel rapporté dans les travaux de **Dixon et al., (2003)**.

Cette augmentation des protéines s'expliquerait aussi par le fait que la présence de xénobiotique à l'intérieur des tissus, stimule la synthèse protéique de nombreuses enzymes entre autres celles intervenant dans la détoxification, ce qui est en parfait accord avec les résultats de **Stolt et al., (2003)** qui indiquent que l'exposition des plantes à différentes concentrations de cadmium a tendance à provoquer une augmentation de la synthèse des protéines particulièrement des phytochélatines dont le rôle est la détoxification.

Nos résultats concordent aussi avec ceux de **Meksem et al., (2007)** sur les deux variétés de blé dur (GTA dur et Vitron) après traitement au FL SC et Tilt 250 EC deux fongicides, ou ils ont mis en évidence une augmentation significative de la teneur en protéines solubles, comparativement au témoin et ceci avec un effet dose réponse.

D'autres travaux (**Wollgieh et Newmann, 1995**) rapportent l'induction des protéines spécifiques au choc thermique sous l'effet d'un stress métallique qui montre leur rôle dans la réponse adaptative.

Gardés-albert et al., (2003) ont expliqué l'augmentation des protéines par le fait que la plante cherche à protéger son intégrité morphophysiolgogique, en réponse au dommage et effet défavorable de la molécule en élaborant des protéines dont le rôle est de neutraliser la molécule herbicide (xénobiotique).

La stimulation de la synthèse protéique qui s'expliquerait par le fait que la présence de l'herbicide Calliofop 36EC, à l'intérieur des tissus stimule la synthèse de nombreuses enzymes, entre autres celles intervenant dans la détoxification (**Shraddah et al., 2004**).

De nombreuses études ont montré que la teneur en protéines chez les macrophytes est diminué par l'accumulation de Pb dans des milieux aquatiques (**Gupta et Chandra, 1996; Mohan et Hosetti, 1997**). La réduction de la teneur en protéines a été observée chez les deux plantes étudiées après 14 jours de traitement au Calliofop 36 EC.

Concernant le taux des sucres solubles, on constate une importante perturbation des glucides chez les deux macrophytes *Elodea Canadensis* et *Lemna minor* en réponse au stress engendré par la présence de l'herbicide cette, perturbation se traduit par une augmentation des taux de glucides d'une manière dose-dépendante au cours du traitement.

Paramètres biochimiques et physiologiques

De nombreuses études mettent en évidence une accumulation de teneurs élevées en sucres solubles chez différents types de plantes soumises à différents stress : hydrique (**Mefiti et al., 1998 ; Kameli et Losel, 1995**) ; salin (**Zid et Grignon, 1991**), osmotique (**Abdelkrim et al., 2005**), sous effets de pesticide (fongicides) (**Meksem et al., 2007**), 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 (**Mefiti 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 interne. (**Hellmann et al., 2000**). On pense que cette accumulation de carbohydrates ne pourrait pas être due à une surproduction des assimilés 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**).

Les glucides source d'énergie indispensable pour les organismes vivants sont utilisés de façon immédiate comme le glucose, ou sous forme de réserves comme l'amidon, ils possèdent aussi un rôle structural (matériau de renfort de la paroi des cellules végétales) comme la cellulose, la chitine ou l'acide hyaluronique. L'enrichissement en sucres solubles, paraît protéger les membranes de la dessiccation. (**Binet, 1989**). L'augmentation enregistrée aux différentes doses des fongicides est due probablement à une augmentation de la teneur en sucres et de la turgescence (**Prasad, 1995**).

Dans ce travail nous nous sommes également intéressés à la teneur en proline en présence du Calliofop 36 EC; 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**).

Paramètres biochimiques et physiologiques

Certains auteurs (**Zid et Grignon, 1991 ; Singh et al., 2006**), pensent que les quantités accumulées de proline 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), Hernandez, (2000)** ont montré plutôt une adaptation des taux de la proline chez les plantes exposées au stress. 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 ; Ben khalled et al., 2003**) et/ou une synthèse de nouveau de cet acide aminé.

La proline peut jouer un rôle osmoprotecteur (**Peleg et al., 1984 ; Delaunay et Verma, 1993 ; Taylor, 1996**), stabilisateur des protéines (**Kuznetsiv et sheveyakova, 1997, Shah et Dubey, 1998**), inhibiteur des métaux (**Farago et Mullen, 1979**) et inhibiteur de la peroxydation (**Mehta et gaur, 1999**). Cette augmentation du taux de proline peut être expliquée selon **Ober et sharp , (1994)**, par un effet de stress chez la plante. La synthèse de la proline peut impliquer également un allègement de l'acidification du cytoplasme qui permet de maintenir le rapport NADP/NADPH à une valeur compatible à celle du métabolisme (**Hare et Cress, 1997**). Selon **Monneveux et Nermann , (1989)**, l'accumulation de proline est associée à la résistance de la plante au stress, ce qui pourrait donc être l'un des facteurs qui expliquent le mieux la stratégie d'adaptation des plantes.

Nous avons procédé au dosage des teneurs moyennes en chl *a* et *b*, et chlorophylle totale (*a+b*) paramètres susceptibles de nous indiquer un éventuel stress, car considérées comme bio marqueur de la toxicité des végétaux puisque des corrélations entre les densités cellulaires et les paramètres de la fluorescence photosynthétiques ont prouvé que ces dernières pouvaient être considérées comme biomarqueurs de la toxicité, dans le cadre de la pollution environnementale (**Dewez et al.,2007**).

Les résultats obtenus montrent une diminution du taux de chlorophylle (*a*, *b* et *a+b*) chez les plantes exposées au Calliofop 36EC cette réduction chlorophyllienne est dose – dépendante, on a noté chez *Elodea Canadensis* une inhibition des chlorophylles (*a*, *b* et *a+b*) ces résultats concordent avec plusieurs travaux sur *Elodea canadensis* exposée aux pesticides et aux métaux lourds , la teneur en chlorophylle est un paramètre qui est sensible à la toxicité des métaux lourds (**Gupta et Chandra, 1996**). Les auteurs suivants **Muhittin Dogan et al ., (2009) , Saygideger et Dogan (2004); Saygideger et al.,(2004)** on noté une réduction dose réponse des teneurs en chlorophylle (*a*, *b* et *a+b*) respectivement chez *Elodea canadensis* et *Lemna minor* , exposées à différentes concentrations de plomb .

Une autre étude selon **El zbieta Kielak et al., (2011)** sur la phytotoxicité d'un herbicide Roundup Ultra 360 SL sur la lentille d'eau *Lemna minor*, a montré une diminution des taux de chlorophylle *a*, *b* et *a+b*, en augmentant la dose de l'herbicide. **Moldes et al., (2008)** ont suggéré que la diminution de la teneur en chlorophylle, dans les tissus de soja traités au glyphosate (herbicide) peuvent être causés par la perte de caroténoïdes et / ou par l'inhibition de leur biosynthèse et la photo-destruction, l'herbicide peut inhiber la synthèse de la chlorophylle en réduisant la formation de la daminolevulinic acide (ALA) en tant que précurseur de porphyrine.

Plus le nombre de molécules de chlorophylle *a*, *b* et caroténoïdes est important, plus l'énergie lumineuse absorbée est importante et la chaîne photosynthétique peut fonctionner au maximum de ses capacités. (**Kloskowski et al., 1992 ; Dec et al., 1997**)

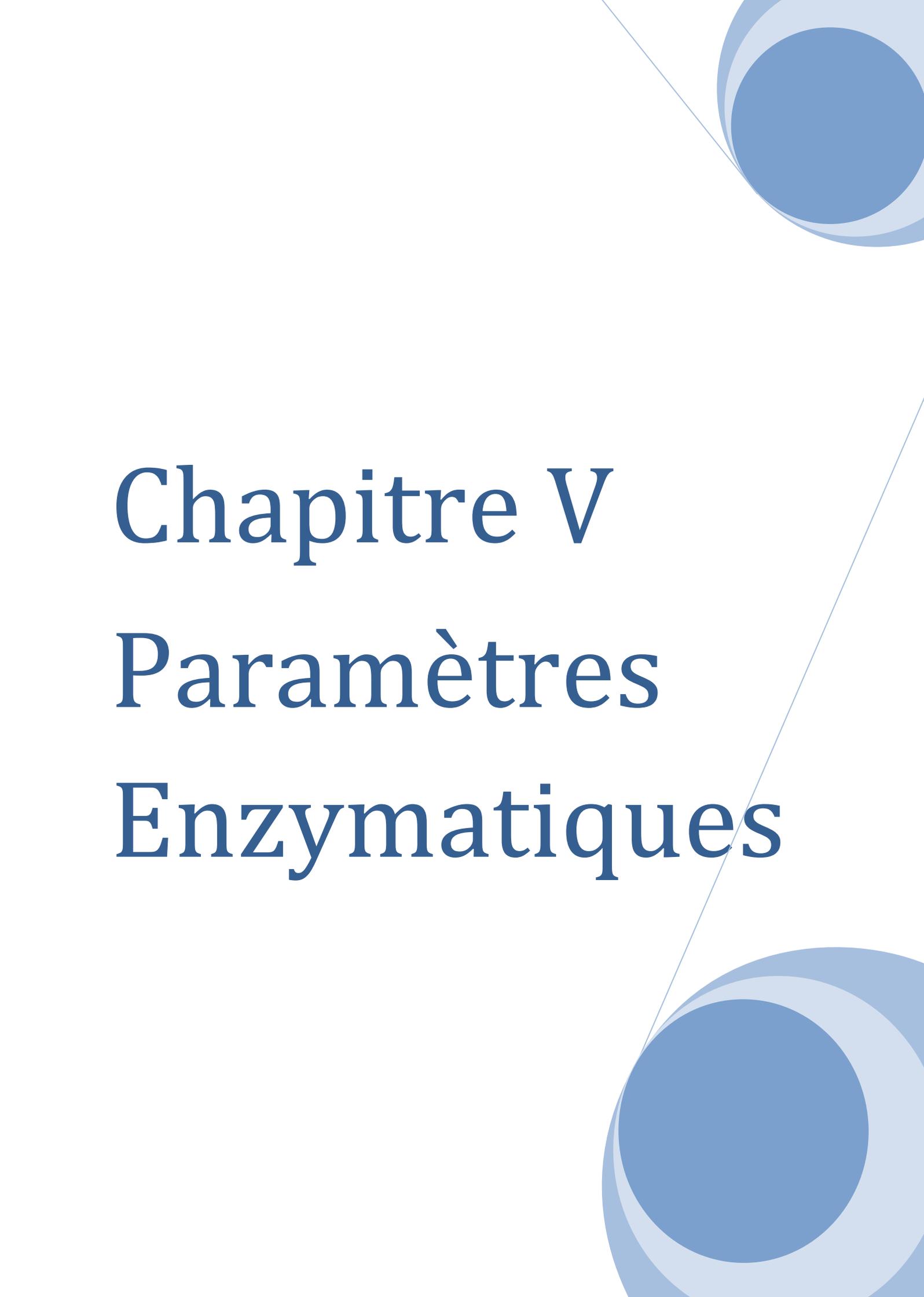
En parallèle chez *Elodea canadensis* nous avons constaté une augmentation de la teneur en chlorophylles (*a*, *b* et *a+b*) après 21 jours de traitement par le Calliofop 36 EC Cette augmentation pourrait traduire une stimulation de la photosynthèse et peut être également expliquée, par les besoins en précurseurs pour la synthèse de certains polypeptides spécifiques (phytochélatines) via la photo respiration (**Robert et Roland, 1998 ; Lidia et al., 2004**). Aussi ces résultats obtenus concordent beaucoup plus avec ceux de **Harrieche et al., (2004)**, qui rapporte un effet stimulateur du cadmium sur la teneur en chlorophylle.

- **Conclusion**

Pour conclure ce chapitre, concernant la toxicité du Callifop 36EC sur les paramètres, physiologiques et biochimiques chez *Elodea canadensis* et *Lemna minor*, les concentrations du Calliofop 36EC sont celles de la substance active le Diclofop méthyle. Les plantes sont exposées à différentes durées de traitement : 3, 7, 14, et 21 jours à des concentrations : 35µg, 70µg et 140 µg de produit, les plantes traitées à l'eau distillée son considérés comme témoin. Les résultats obtenus dans notre étude mettent en évidence un effet toxique du Calliofop 36EC chez les deux espèces *Lemna minor* et *Elodéa canadensis*, les deux Macrophytes ont des seuils de tolérance différents, la lentille d'eau et l'élodée montrent un potentiel d'accumulation important, *Lemna minor* étant plus sensible que *Elodea canadensis* pour l'herbicide en question, les teneurs en Calliofop 36EC dans les tissus augmentent en fonction

Paramètres biochimiques et physiologiques

des concentrations du xénobiotique , ces résultats prouvent bien la présence d'un stress oxydant en réponse à l'accumulation de l'herbicide au niveau des tissus des deux Macrophytes. Ce stress se traduit par une augmentation des protéines totales, accumulation des sucres totaux dans les tissus et perturbation de leurs teneurs en métabolites dans le temps, une stimulation de la teneur en proline, et le déséquilibre dans les teneurs en chlorophylles (a , b , $a+b$) ainsi qu'une diminution des teneurs en chlorophylle et par moment leur augmentation chez *Elodea Canadensis* .



Chapitre V

Paramètres

Enzymatiques

Introduction

A. Le stress oxydatif chez les plantes

Le stress oxydatif chez les plantes fait l'objet de très nombreuses revues bibliographiques (**Bartosz, 1997; Bolwell et Wojtaszek, 1997; Van Breusegem *et al.*, 2001; Potters *et al.*, 2002; Schutzendubel and Polle, 2002; Blokhina *et al.*, 2003; Apel et Hirt, 2004; Foyer et Noctor, 2005a; Pitzschke *et al.*, 2006; Wormuth *et al.*, 2007**) et de plusieurs ouvrages (**Inze et Montagu, 2001; Smirnoff *et al.*, 2005**). Ainsi, le but de cette partie bibliographique n'est pas de faire un point totalement exhaustif sur ce vaste sujet, mais de réaliser un aperçu des différents processus prooxydants et antioxydants se déroulant dans les cellules végétales, permettant de comprendre les mécanismes conduisant à la génération d'un stress oxydatif.

- **Le statut redox cellulaire**

Commencée il y a plus de 1,8 milliards d'années, 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. 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 (**Pourrut, 2008**).

- **Les Espèces Réactives de l'Oxygène**

Les ERO sont souvent associées aux radicaux libres. Le terme de radical libre renvoie à n'importe quelle espèce capable d'une existence indépendante (d'où le terme de libre) contenant un ou plusieurs électrons non appariés (**Halliwell, 2006**). Un électron non apparié est un électron qui occupe seul, une orbitale atomique ou moléculaire. L'exemple le plus simple de radical libre est l'hydrogène qui possède un seul électron non apparié sur sa couche orbitale externe. Ainsi, si les radicaux libres ne sont pas forcément associés à des espèces dérivant de l'oxygène, la notion de réactivité n'est pas forcément relative aux radicaux.

Paramètres enzymatiques

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. La forme stable de dioxygène que nous connaissons, dite triplet, est un biradical libre possédant deux électrons non appariés avec des spins parallèles. Sous cette forme, le dioxygène est un puissant agent oxydant. Cependant, en vertu des règles de restriction de spin de Wigner, et du fait de sa structure électronique, l'oxygène fondamental possède une forte inertie vis-à-vis des molécules biologiques, pour la plupart non radicalaires. Sa réactivité est limitée aux molécules capables d'apporter un ou deux électrons non appariés, et dont le spin est antiparallèle aux siens. La réactivité des espèces chimiques qui dérivent de ce dioxygène est, elle aussi, relative. En effet, l'anion superoxyde ($O_2\cdot^-$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sont très sélectifs dans leurs réactions avec les molécules biologiques et ne vont, par exemple, interagir qu'avec quelques enzymes. Au contraire, le radical hydroxyle ($\cdot OH$) réagit avec toutes les molécules présentes à proximité (**Pourrut, 2008**).

B. 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 et Noctor, 2003**)

- Les antioxydants

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 et Whiteman, 2004**).

C. 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 et Gallie, 2004; Foyer et 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).

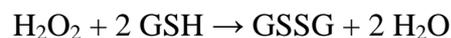
Paramètres enzymatiques

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 et 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 et Noctor, 2000; Foyer *et al.*, 2001; Foyer et 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.

D. 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) (**Pourrut, 2008**).

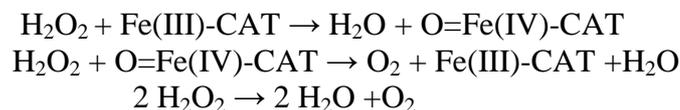
- Les superoxydes dismutases (SOD)

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 (**Pourrut, 2008**):



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

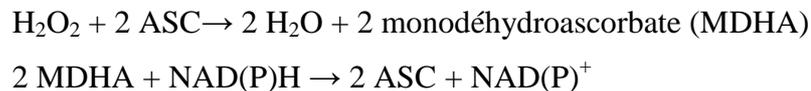
Paramètres enzymatiques

enzymes antioxydantes les plus importantes, il semble désormais que son importance dans la détoxification de l' H_2O_2 soit réduite, en dehors de celui issu du métabolisme peroxysomal (**Blokhina et al., 2003; Halliwell, 2006; Pitzschke et al., 2006**).

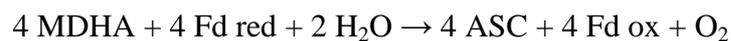
- Les enzymes du cycle Asada-Halliwell-Foyer

Le cycle Asada-Halliwell-Foyer est un cycle composé de quatre enzymes conduisant, par des réactions d'oxydoréduction successives, à la réduction de l' H_2O_2 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 et 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 :

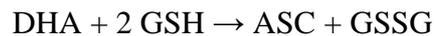
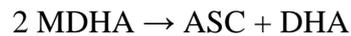


Néanmoins, la situation est un peu plus compliquée, puisque le MDHA est aussi un accepteur d'électrons pouvant être réduit directement par dérivation des électrons de la CTE chloroplastique (**Miyake et Asada, 1994**). Le MDHA rentre en compétition avec le NADP^+ pour accepter l'électron libéré par la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

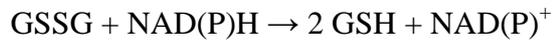


Comme nous l'avons vu précédemment, le MDHA est une molécule instable se dismutant en ASC et déhydroascorbate (DHA). La deuxième enzyme intervenant dans la régénération de l'ascorbate, la déhydroascorbate réductase (DHAR ; EC 1.8.5.1), catalyse la réduction du DHA en ASC, via l'oxydation de deux molécules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

Paramètres enzymatiques



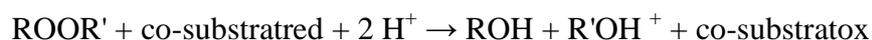
La dernière réaction de ce cycle est la réduction du GSSG par une flavoprotéine, la glutathion réductase (GR ; EC 1.8.1.7), utilisant pour cela du NAD(P)H comme cofacteur (**Pourrut, 2008**) :



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 et 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 et 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.

Paramètres enzymatiques

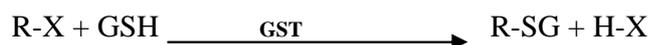
- **Les peroxyredoxines**

Les peroxyredoxines (PRX), aussi appelées thiorédoxines peroxydases, sont des peroxydases non hémiques contenant un résidu cystéine au niveau de leur site catalytique. Elles possèdent généralement les mêmes capacités peroxydasiques que les POX, mais avec une efficacité moindre (Navrot *et al.*, 2006). La réduction du substrat s'effectue par oxydation du groupement thiol (-SH) de la cystéine en acide sulfénique (-SOH). La réduction de l'acide sulfénique est due à l'oxydation de co-substrats tels que les thiorédoxines, glutaredoxines et cyclophilines (Dietz *et al.*, 2006; Dietz, 2007).

Découvertes il y a à peine plus de dix ans, les PRX apparaissent désormais comme des éléments essentiels du système de détoxification des ERO dans cellules végétales (Rouhier et Jacquot, 2002; Dietz *et al.*, 2006; Pena-Ahumada *et al.*, 2006; Dietz, 2007). Présentes en quantité importante dans tous les compartiments cellulaires, y compris dans le noyau, les PRX semblent être avec les APX, les enzymes les plus importantes dans la réduction de l'H₂O₂ (Rouhier et Jacquot, 2002; Dietz *et al.*, 2006; Dietz, 2007). Par ailleurs, elles agissent de façon totalement indépendante par rapport au cycle Asada-Halliwell-Foyer (Dietz *et al.*, 2006).

- **La glutathion S-transférase**

La glutathion S-transférase (GST, EC 2.5.1.18) est une enzyme de phase II, qui joue un rôle important à la fois dans la protection anti-oxydative et dans le métabolisme des xénobiotiques. Elle catalyse la conjugaison du glutathion endogène (GSH) avec un grand nombre de structures variées, cette conjugaison induit le plus souvent une détoxification de composés cyto- et génotoxiques (Marrs, 1996). On obtient la réaction la suivante :



Il s'agira ici de savoir si la GST a plutôt un rôle dans le mécanisme de détoxification des pesticides ou si elle intervient seulement comme enzyme de protection contre le stress oxydant. Pour cela nous comparerons les réponses obtenues par d'autres enzymes du stress anti-oxydatif comme l'ascorbate peroxydase (E.C. 1.11.1.11).

E. Les mécanismes de la résistance aux herbicides

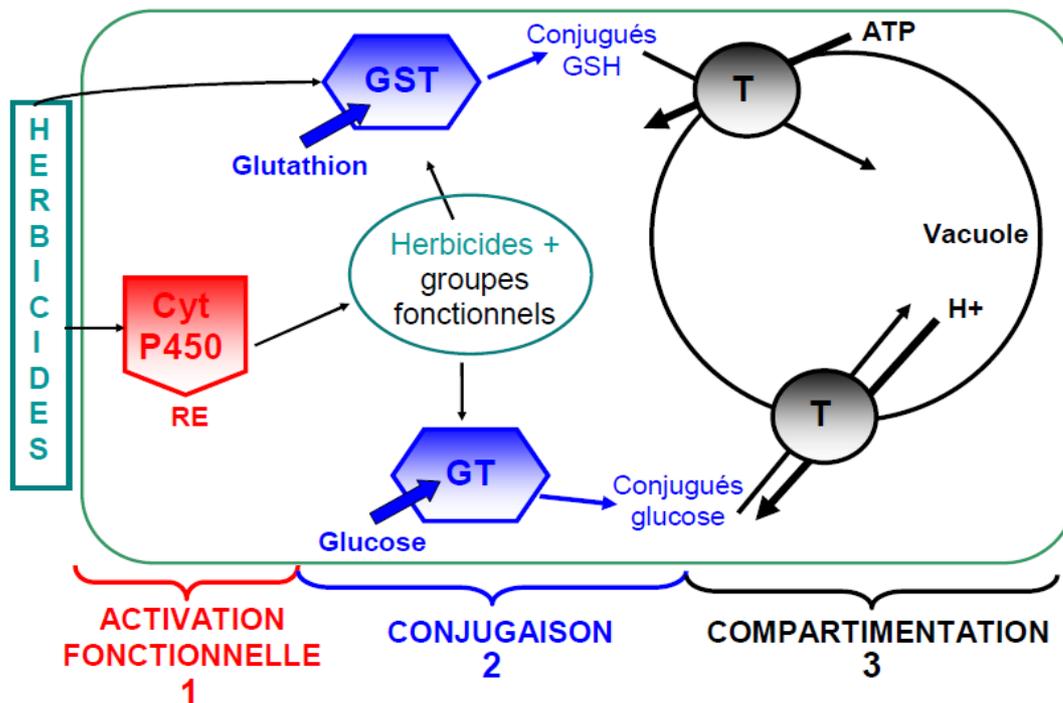
La résistance aux herbicides implique au moins deux mécanismes principaux : la résistance de cible et la résistance par métabolisation. Ces deux mécanismes peuvent d'ailleurs co-exister chez un même individu. La résistance de cible est due à une ou plusieurs mutations du gène codant pour la cible de l'herbicide : cette dernière se trouve alors moins sensible à l'herbicide et la plante survit à la dose appliquée au champ. En termes de résistance croisée, ce mécanisme de résistance ne concerne qu'un ou plusieurs herbicides ayant le même mode d'action. La résistance par métabolisation est quant à elle un caractère à déterminisme polygénique beaucoup plus complexe. Elle correspond à une dégradation plus rapide des molécules d'herbicide chez les individus résistants par rapport aux sensibles. Concernant la résistance croisée, un gène de résistance par métabolisation peut, quant à lui, affecter l'efficacité de plusieurs herbicides ayant des modes d'action différents. C'est pourquoi la résistance par métabolisation est plus difficile à gérer comparée à la résistance de cible (**Yuan et al., 2007**). De plus, le contrôle génétique de la résistance par métabolisation est complexe, et nécessite des données génomiques pour être étudié. Or, les informations génomiques sont inexistantes sur les mauvaises herbes. De ce fait, la résistance par métabolisation a fait l'objet de beaucoup moins d'études que la résistance de cible.

- **La résistance par métabolisation**

Dans un premier temps des réactions d'activation fonctionnelles (oxydation, hydrolyse...) introduisent ou révèlent, dans la molécule d'herbicide, des groupes fonctionnels nécessaires pour la phase suivante qu'est la conjugaison. Au cours de cette seconde étape, les groupes fonctionnels de la molécule herbicide se trouvent conjugués à des substrats endogènes de la plante (glutathion, glucose...). À la fin de cette étape, la molécule d'herbicide a perdu de sa phytotoxicité et est plus hydrosoluble et moins mobile. La troisième étape consiste à stocker les molécules détoxifiées dans la vacuole et/ou dans les parois cellulaires. Selon **Bartholomew et al., 2002**, une quatrième étape peut faire suite aux trois précédentes : la dégradation des molécules conjuguées au niveau de la vacuole et/ou des parois cellulaires. À chacune des trois premières étapes, on peut associer une ou plusieurs familles multigéniques d'enzymes métaboliques (Figure 25). Jusqu'à présent, la résistance par

Paramètres enzymatiques

métabolisation n'a été bien établie que pour quatre familles d'enzymes : celle des mono-oxygénases à cytochrome P450, des Glutathion-S-Transférases, des Glycosyltransférases et celle des transporteurs ABC.



D'après Coleman *et al.*, 1997

Figure 25 : Les 3 phases de la métabolisation des herbicides. GST : Glutathion-S - Transférase ; GT : Glycosyltransférase ; T : transporteur.

Pour la première phase de la détoxification, la famille d'enzymes la plus importante est celle des mono-oxygénases à cytochrome P450 (CYP) (Werck-Reichhart *et al.*, 2000). Chez *Arabidopsis thaliana*, cette famille compte près de 300 gènes. Le rôle de base de cette famille est la biosynthèse de métabolites dits secondaires tels que les acides gras, les terpènes, les stérols... L'implication de CYP dans la métabolisation des herbicides a été bien établie, notamment pour les espèces cultivées comme le blé (Forthoffer *et al.*, 2001; McFadden *et al.*, 1989) et le maïs (Fonne-Pfister *et al.*, 1990; Fonne-Pfister et Kreuz, 1990), mais également pour quelques adventices, comme *Lolium rigidum* (Burnet *et al.*, 1993). Pour la seconde étape, les deux familles d'enzymes considérées comme les plus importantes sont

Paramètres enzymatiques

celle des Glutathion-S-Transférases (GST) (**Marrs et al., 1995**) et celle des glycosyltransférases (GT) (**Gachon et al., 2005**).

Considérons dans un premier temps la famille des GST. Cette famille est composée de 50 gènes chez *Arabidopsis thaliana*. Les GST sont des enzymes qui accrochent un groupe glutathion (libre dans la cellule) sur des substrats électrophiles (comme les herbicides dans le cas de leur détoxification). Elles ont pour rôle de base principal la conjugaison de composés endogènes toxiques afin qu'ils soient compartimentés, comme l'anthocyanine (**Li et al., 1997**). Le rôle d'une surexpression de gènes codant pour des GST a été mis en évidence dans l'augmentation de l'activité des GST impliquées dans la résistance par métabolisation (**Cummins et Edwards, 2004**). Cette famille a également fait l'objet de plusieurs études montrant son implication dans la métabolisation d'herbicides chez différentes espèces cultivées comme le blé (**Cummins et Edwards, 2004**) ou encore le maïs (**Edwards et al., 2000**).

L'autre famille d'enzymes impliquée dans la seconde phase de métabolisation des herbicides est celle des GT (**Hall et al., 1982**). On compte 120 gènes de cette famille chez *Arabidopsis thaliana*. Le rôle de base des GT est de maintenir l'homéostasie cellulaire (maintien de l'équilibre dynamique du milieu intra-cellulaire) en contrôlant la concentration d'hormones. Les GT conjuguent une molécule de sucre à différents substrats lipophiles comme dans notre cas les herbicides. Il existe des O- et des N- GT selon l'accepteur, mais ces deux types de GT jouent un rôle dans la détoxification des herbicides (**Brazier et al., 2002**; **Bowles et al., 2006**).

Enfin pour la troisième phase de la métabolisation d'herbicides, le transport des produits conjugués conduisant à leur compartimentation dans la vacuole, celui-ci est essentiellement assuré par la famille multigénique des transporteurs ABC (Theodoulou, 2000). On compte 50 gènes dans la famille des transporteurs ABC chez *Arabidopsis thaliana*. Le transport de métabolites par les protéines ABC est un phénomène actif nécessitant la présence d'ATP ou de GTP, qui fournissent l'énergie nécessaire. Le rôle de base de cette famille est l'excrétion de composés toxiques, de métabolites secondaires pour maintenir l'homéostasie. La famille des transporteurs ABC a été bien étudiée chez des espèces cultivées (**Gaillard et al., 1994**) ainsi que chez des espèces modèles (**Martinoia et al., 2002**).

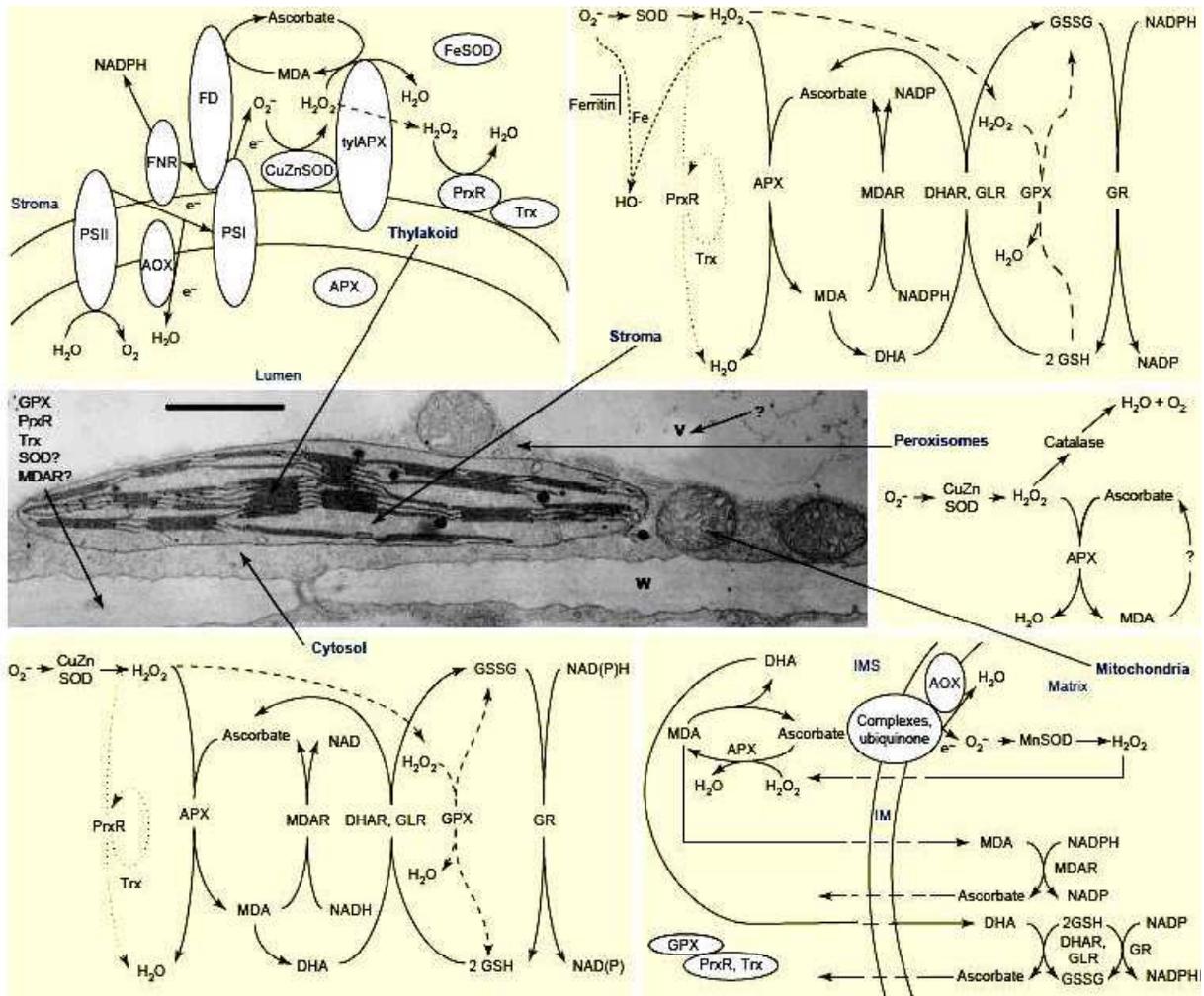


Figure 26 : Représentation de la localisation des différentes voies enzymatiques de détoxication des ERO au niveau d'une cellule végétale (Mittler *et al.*, 2004).

1. Objectif du travail

L'objectif de ce chapitre est d'étudier les effets du Calliofop 36EC sur les activités enzymatiques : l'Ascorbate-peroxydases (APX), la Gaïacol-peroxydases (GPX), la Catalase (CAT), la Glutathion S-Transférase (GST) et non enzymatique : Le Glutathion (GSH), Malondialdéhyde (MDA), chez les deux plantes aquatique en question : *Elodea canadensis* et *Lemna minor* en présence de l'herbicide Calliofop 36EC

2. Analyse statistique des résultats

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique grâce au logiciel Minitab 16. Les données sont représentées par la moyenne plus ou moins l'écart type ($m \pm SD$). Une analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) est effectuée. Les moyennes ont été comparées par le test de TUKEY et DUNNETT. Le seuil de signification est $\alpha \leq 0.05$ (Dagnelie, 1999).

3. Résultats

Dans cette partie nous avons représenté les principaux résultats obtenus concernant les essais réalisés au laboratoire, sur les activités enzymatiques : **l'Ascorbate peroxydases (APX), la Gaïacol-peroxydases (GPX), la Catalase (CAT) , la Glutathion S-Transférase (GST) et non enzymatique : Le Glutathion (GSH) , Malondialdehyde (MDA).**

3.1 Effets du Calliofop 36EC sur les activités enzymatiques

3.1.1 *Elodea canadensis*

Tableau 07 : Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY concernant les paramètres enzymatiques des feuilles de *Elodea canadensis* après 3, 7, 14 et 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D₀ témoin, D₁= 35µg, D₂ = 70µg, D₃ = 140 µg).

Variables	ddl	SCE	CM	Fobs	P	Dunnette	Tukey
X ₁₀ -3jour	3	0,0000000	0,0000000	13,47	0,004 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B),D ₂ (A,B,C), D ₃ (B,C)
X ₁₀ -7jour	3	49,863	16,621	5,18	0,042 *	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A), D ₃ (B)
X ₁₀ -14jour	3	2177,76	725,92	20,63	0,001 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (B)
X ₁₀ -21jour	3	0,045174	0,015058	16,92	0,002 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A), D ₃ (B)
X ₁₂ -3jour	3	0,0000313	0,0000104	0,34	0,795 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₁₂ -7jour	3	0,0005329	0,0001776	11,67	0,006 **	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B),D ₂ ,D ₃ (B)
X ₁₂ -14jour	3	0,0012183	0,0004061	8,58	0,014 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ D ₂ , (A,B), D ₃ (B)
X ₁₂ -21jour	3	0,0076817	0,0025606	48,95	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ ,D ₁ (A), D ₂ (B), D ₃ (C)
X ₁₄ -3jour	3	0,0175993	0,0058664	65,28	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ ,D ₁ (A), D ₂ (B), D ₃ (C)
X ₁₄ -7jour	3	0,0237217	0,0079072	38,67	0,000 ***	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ (A),D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (B)
X ₁₄ -14jour	3	0,0158497	0,0052832	26,96	0,001 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B),D ₂ (A,B,C), D ₃ (B,C)
X ₁₄ -21jour	3	0,0371149	0,0123716	180,24	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B),D ₂ (C), D ₃ (D)
X ₁₅ -3jour	3	0,069492	0,023164	10,01	0,009 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B),D ₂ ,D ₃ (B)
X ₁₅ -7jour	3	0,062700	0,020900	13,70	0,004 **	D ₀ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,(A) D ₃ (B)
X ₁₅ -14jour	3	0,044492	0,014831	2,97	0,119 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₁₅ -21jour	3	0,062333	0,020778	7,12	0,021 *	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ (A,B), D ₃ (B)

X₁₀: GST ; X₁₂: GPX ; X₁₄: APX ; X₁₅: CAT

a) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Ascorbate-peroxydases (APX)

La figure (27), illustre les effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Ascorbate-peroxydases (APX), chez les feuilles de *Elodea canadensis*, l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose), (Tab.07), a permis de mettre en évidence une augmentation significative ($p \leq 0.05$) des traités par rapport au témoin et ce après 7 jours de traitement. Nous enregistrons aussi à 14 jours de traitement, une augmentation hautement significative ($p \leq 0.001$) comparativement au témoin, alors que cette augmentation en APX se trouve être très significative ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin, après 3 et 21 jours de traitement.

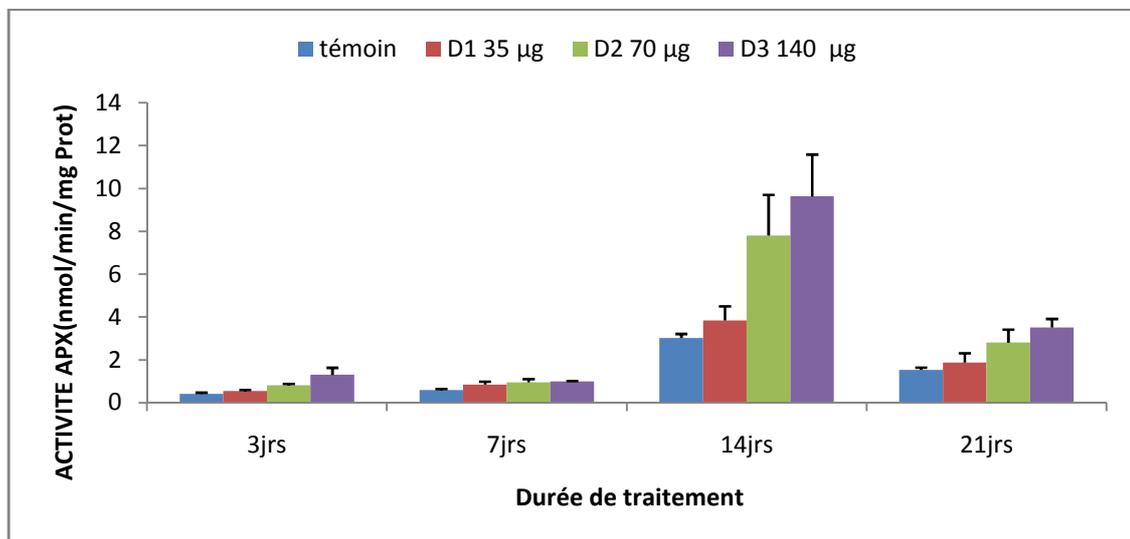


Figure 27: Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Ascorbate-peroxydases (APX) (nmol/min/mg Prot) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNNETTE** indique pour l'activité Ascorbate-peroxydases (APX) X_{14} , après 3 jours de traitement, que la dose témoin D_0 est différente des trois autres doses D_1 , D_2 et D_3 . Après 7 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que le dose témoin D_0 est identique aux doses D_1 et D_2 , et différente de la dose D_3 . Après 14 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que le dose témoin D_0 est identique au doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 . Après 21 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . (Tab.07)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour l'activité Ascorbate-peroxydases (APX) X_{14} , après 3 jours de traitement, trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 la dose témoin et D_1 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_2 , et le troisième groupe **C** : contient la dose D_3 . La dose témoin, identique à la dose D_1 est différente des doses D_2 et D_3 , ces deux dernières sont différentes entre elles et différentes de la dose D_1 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes de doses : le premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 , et D_3 ces doses sont identiques entre elles et sont différentes de la dose témoin D_0 ; Cependant , après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 , D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 , D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_2 et D_3 , la dose D_1 est d'une part identique à la dose témoin D_0 et à D_2 , d'autre part la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique à la dose D_3 ; Cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 , tandis qu' après 21 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence quatre groupes différents : le premier groupe **A** : contient la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et le quatrième groupe **D** : contient la dose D_3 , les quatre groupes sont parfaitement séparés chaque dose est différente des trois autres doses et n'est identique à aucune d'entre elles. (Tab.07)

b) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité la Gaïacol-peroxydases (GPX)

La figure (28) montre les effets du Calliofop 36 EC sur l'activité la Gaïacol-peroxydases (GPX), chez les feuilles d'*Elodea canadensis*. La figure indique une augmentation très significative ($p \leq 0.01$) des traités par rapport au témoin après 7 et 14 jours de traitement, et une augmentation significative ($p \leq 0.001$) par rapport au témoin après 21 jours de traitement, ces résultats sont confirmés par , l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (Tab.07).

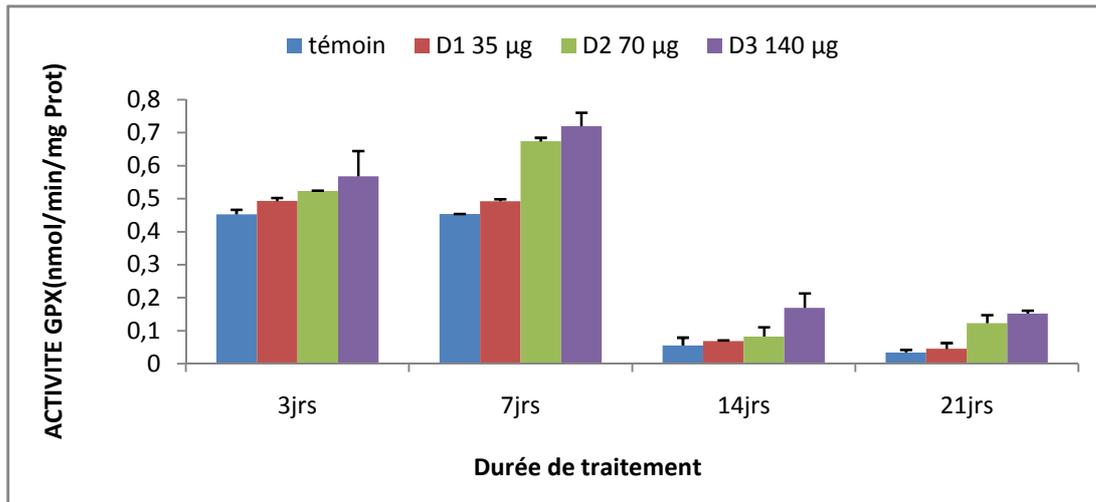


Figure 28: Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité la Gaïacol-péroxydases (GPX) (nmol/min/mg Prot) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNNETTE** indique pour l'activité la Gaïacol-péroxydases (GPX) X_{12} , après 3 jours de traitement, que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques à la dose témoin D_0 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que la dose témoin D_0 est identique au doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 ; Après 14 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que le dose témoin D_0 est identique au doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . (**Tab.07**)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour L'activité la Gaïacol-péroxydases (GPX) X_{12} , après 3 jours de traitement, un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec la doses témoin D_0 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : comprend les doses D_1 , D_2 et D_3 . La dose D_1 est identique à la dose témoin D_0 et aux doses D_2 et D_3 , quoique ces deux dernières sont différentes de la dose témoin D_0 ; Après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents : le premier groupe **A** : comprend les doses D_0 , D_1 et D_2 , le deuxième groupe **B** : se compose des doses D_2 et D_3 . La dose D_3 est identique à la dose D_2 et différente des doses D_1 et D_0 quoique ces deux dernières sont

Paramètres enzymatiques

identiques à la dose D₂; Après 21 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D₀ (la dose témoin) et D₁, le deuxième groupe **B** : contient la dose D₂, et le troisième groupe **C** : contient la dose D₃. La dose témoin est identique à la dose D₁ est différente des dose D₂ et D₃, ces deux dernières sont différente entre elles et différentes de la dose D₁. (**Tab.07**)

c) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Catalase (CAT) :

La figure (29), met en évidence les effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Catalase (CAT) chez les feuilles d'*Elodea canadensis* ; Après avoir analysé les résultats par l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (**Tab.07**), on remarque une augmentation de l'activité CAT très significative ($p \leq 0.01$) des traités par rapport au témoin après 3 et 7 jours de traitement, et une augmentation significative ($p \leq 0.05$) par rapport au témoin après 21 jours de traitement et non significative ($P \geq 0,05$) des traités par rapport au témoin après 14 jours de traitement .

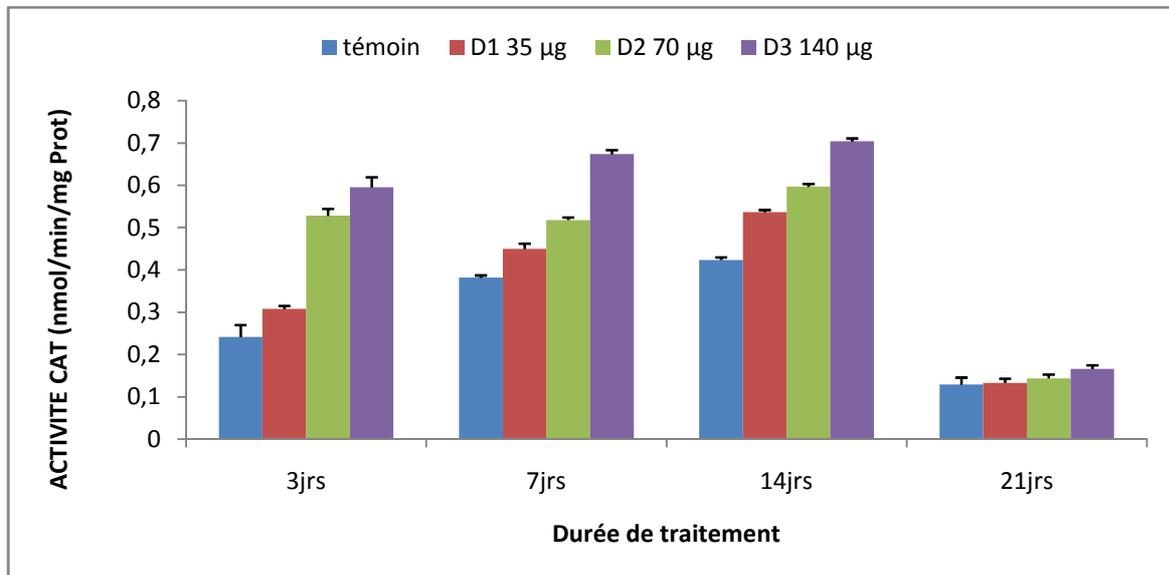


Figure 29 : Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité catalase (CAT) (nmol/min/mg Prot) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de DUNNETTE indique pour l'activité catalase (CAT) X_{15} , après 3 jours de traitement que la dose témoin D₀ est identique aux doses D₁, D₂, et différente de la dose D₃ ; Après 7 jours de traitement, le test de DUNNETTE indique que la dose témoin D₀ est

Paramètres enzymatiques

différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 ; Après 14 jours de traitement, le test de DUNNETTE révèle que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques à la dose témoin D_0 ; Après 21 jours de traitement, le test de DUNNETTE montre que la dose témoin D_0 est identique aux doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 . (**Tab.07**)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour l'activité catalase (CAT) X_{15} , après 3 jours de traitement, deux groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : comprend les doses D_1 , D_2 et D_3 . La dose D_1 est identique à la doses témoin D_0 et aux doses D_2 et D_3 , quoique ces deux dernières sont différentes de la dose témoin D_0 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents : le premier groupe **A** : contient les doses D_0 , D_1 , et D_2 , le deuxième groupe **B** : comprend la dose D_3 , les doses du premier groupe **A** (D_0, D_1, D_2) sont identiques et différentes de la dose D_3 ; Cependant, après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec la doses témoin D_0 , tandis qu'après 21 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes de doses, le premier groupe **A** : comprend la dose témoin D_0 et les dose D_1 et D_2 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 et D_3 , les doses D_1 et D_2 sont d'une part identiques à la dose témoin D_0 et la dose D_3 , mais d'une autre part les dose D_0 et D_3 sont différentes. (**Tab.07**)

d) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Glutathion S-Transférase (GST)

La figure (30) montre les effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Glutathion S-Transférase (GST) chez les feuilles d'*Elodea canadensis*, on note une augmentation en GST très significative ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin après 3 et 21 jours de traitement, et une augmentation significative ($p \leq 0.05$) par rapport au témoin après 7 jours de traitement, et hautement significative ($p \leq 0.001$) par rapport au témoin après 14 jours d'exposition à la molécule Calliofop 36EC, ces résultats sont traités par l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (**Tab.07**)

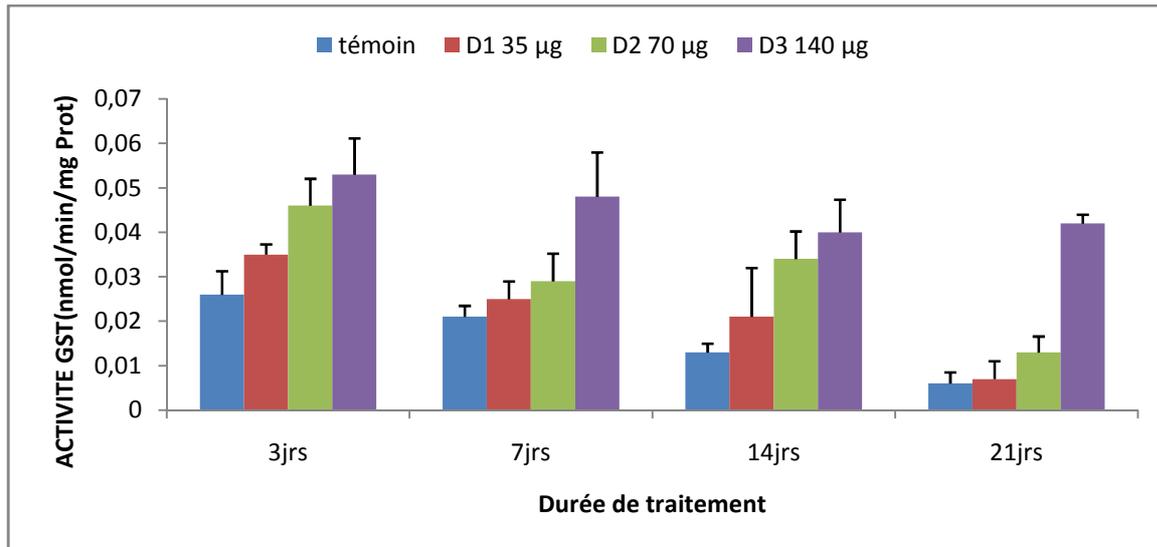


Figure 30: Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Glutathion S-Transférase (GST) (nmol/min/mg Prot) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNNETTE** indique pour l'activité Glutathion S-Transférase (GST) X_{10} , après 3 jours de traitement, que la dose témoin D_0 est identique aux doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que le dose témoin D_0 est identique au doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 ; Après 14 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que le dose témoin D_0 est identique aux doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 . (**Tab.07**)

Le test de classement des groupes homogènes **HSD** de **TUKEY** nous a révélé pour l'activité Glutathion S-Transférase (GST) X_{10} , après 3 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 , D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 , D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_2 et D_3 , la dose D_1 est d'une part identique à la dose témoin D_0 et D_2 , d'une autre part, la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique à la dose D_3 , cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents le premier groupe **A** : contient les doses D_0 , D_1 , et D_2 , le deuxième groupe **B** : comprend la dose D_3 , les doses du premier groupe **A** (D_0, D_1, D_2) sont identiques et différente de la dose D_3 ; Après 14 jours de

Paramètres enzymatiques

traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence deux groupes de doses : le premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 , et D_3 ces doses sont identiques entre elles et différentes de la dose témoin D_0 ; Après 21 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence deux groupes différents le premier groupe **A** : contient les doses : D_0 , D_1 et le deuxième groupe **B** : se compose des doses : D_2 et D_3 , les deux groupes sont parfaitement séparés, la dose D_1 est identique a la dose témoin D_0 et différente des doses D_2 et D_3 ces deux dernières sont identiques entre elles et différentes des doses D_0 et D_1 . (**Tab.07**)

3.1.2 *Lemna minor*

Tableau 08 : Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY concernant les paramètres enzymatiques des feuilles de *Lemna minor* après 3, 7, 14 et 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D₀ témoin, D₁ = 35µg, D₂ = 70µg, D₃ = 140 µg).

Variables	ddl	SCE	CM	Fobs	P	Dunnette	Tukey
X ₉ -3jour	3	0,0000000	0,0000000	31,24	0,000 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ ,D ₁ (A),D ₂ ,D ₃ (B)
X ₉ -7jour	3	0,0000000	0,0000000	21,23	0,001 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A), D ₁ (A,B),D ₂ ,D ₃ (B)
X ₉ -14jour	3	0,069492	0,023164	10,01	0,009 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₉ -21jour	3	0,062700	0,020900	13,70	0,004 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₁₀ -3jour	3	0,0000000	0,0000000	13,52	0,004 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ D ₁ (A), D ₂ (A,B),D ₃ (B)
X ₁₀ -7jour	3	0,0000000	0,0000000	2,98	0,118 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₁₀ -14jour	3	0,0000000	0,0000000	31,24	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ (B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₁₀ -21jour	3	0,0000000	0,0000000	21,13	0,001 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₁₁ -3jour	3	0,0000409	0,0000136	0,48	0,707 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₁₁ -7jour	3	0,0005007	0,0001669	13,56	0,004 **	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ D ₁ (A), D ₂ (A,B),D ₃ (B)
X ₁₁ -14jour	3	0,0012457	0,0004152	9,03	0,012 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ D ₁ (A), D ₂ (A,B),D ₃ (B)
X ₁₁ -21jour	3	0,0076817	0,0025606	48,95	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ (B),D ₂ , D ₃ (B)
X ₁₃ -3jour	3	0,0175993	0,0058664	65,28	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ (B),D ₂ , D ₃ (B)
X ₁₃ -7jour	3	0,0237217	0,0079072	38,67	0,000 ***	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A), D ₃ (B)
X ₁₃ -14jour	3	0,0158497	0,0052832	26,96	0,001 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₁₃ -21jour	3	0,0371149	0,0123716	180,24	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A),D ₁ (B) ,D ₂ (C), D ₃ (D)

X₉: APX; X₁₀: CAT; X₁₁: GST; X₁₃: GPX

a) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Ascorbate-peroxydases (APX)

La figure (31), illustre les effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Ascorbate-peroxydases (APX), chez les feuilles de la lentille d'eau *Lemna minor*, l'histogramme montre une augmentation en APX hautement significative ($p \leq 0.001$) par rapport au témoin après 3 et 7 jours de traitement, et une augmentation très significative en APX ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin après 14 et 21 jours de traitement. Ces résultats sont confirmés par l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose). (Tab.08)

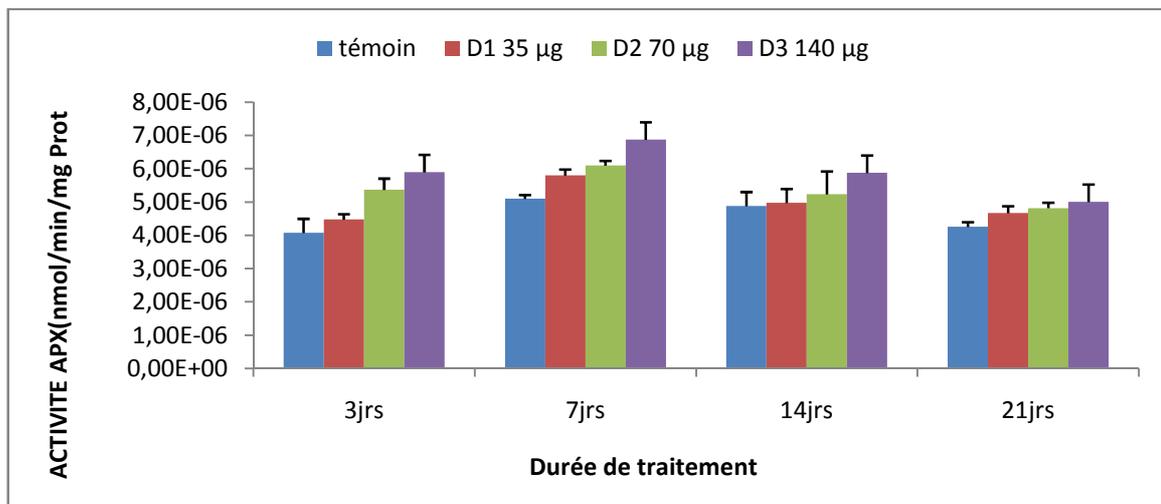


Figure 31 : Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Ascorbate-peroxydases (APX) (nmol/min/mg Prot) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNNETTE** indique pour l'activité Ascorbate-peroxydases (APX) X_9 , après 3 jours de traitement, que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 14 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 . (Tab.08)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour l'activité Ascorbate-peroxydases (APX) X_9 , après 3 jours de traitement, deux groupes différents : le premier groupe **A** : contient les doses : D_0 , D_1 et le deuxième groupe **B** : se compose des doses : D_2 et D_3 , les deux groupes sont parfaitement séparés, la dose D_1 est identique à la dose témoin D_0 et différente des doses D_2 et D_3 ces deux dernières sont

Paramètres enzymatiques

identiques entre elles et différentes des doses D_0 et D_1 ; Après 7 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence deux groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : comprend les doses D_1 , D_2 et D_3 . La dose D_1 est identique à la doses témoin D_0 et aux doses D_2 et D_3 quoique ces deux dernières sont différentes de la dose témoin D_0 ; Après 14 jours de traitement, Le test de TUKEY a permis de mettre en évidence trois groupes de doses, le premier groupe **A** : se compose des doses : D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les dose D_1 et D_2 , le troisième groupe **C** : est composé de la dose D_3 . La dose D_1 est identique à la dose D_0 et D_1 , en même temps elle est différente de la dose D_3 , cette dernière est différente des trois autre doses : D_0 , D_1 , et D_2 ; Après 21 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence trois groupes de doses, le premier groupe **A** : se compose des doses : D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 et D_2 , le troisième groupe **C** : est composé de la dose D_3 . La dose D_1 est identique à la dose D_0 et D_1 , en même temps elle est différente de la dose D_3 , cette dernière est différente des trois autres doses : D_0 , D_1 , et D_2 . (Tab.08)

b) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité la Gaïacol-péroxydases (GPX)

La figure (32), indique les effets du Calliofop 36 EC sur l'activité la Gaïacol-péroxydases (GPX) chez les feuilles de *Lemna minor* , l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (Tab.08), met en évidence une augmentation en GPX hautement significative ($p \leq 0.001$) par apport au témoin après les quatre durées de traitement 3,7,14 et 21 jours.

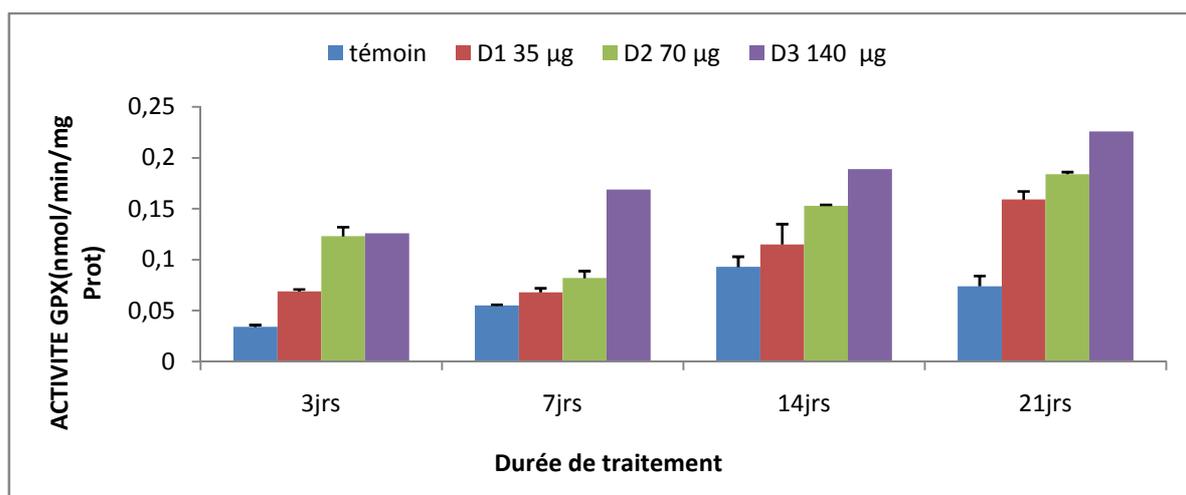


Figure 32 : Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité la Gaïacol-péroxydases (GPX) (nmol/min/mg Prot) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNNETTE** indique pour l'activité la Gaïacol-peroxydases (GPX) X_{13} , après 3 jours de traitement, que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 14 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . (**Tab.08**)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour l'activité la Gaïacol-peroxydases (GPX) X_{13} , après 3 jours de traitement, trois groupes différents le premier groupe **A** : se compose de la dose D_0 la dose témoin, le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , et le troisième groupe **C** : contient les doses D_2 et D_3 . Les doses D_2 et D_3 sont identiques entre elles et différentes des doses témoin et de la dose D_1 qui sont différentes entre elles; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents : le premier groupe **A** : contient les doses D_0 , D_1 , et D_2 , le deuxième groupe **B** : comprend la dose D_3 , les doses du premier groupe **A** (D_0, D_1, D_2) sont identiques et différentes de la dose D_3 ; Cependant, après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 , D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 , D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_2 et D_3 , la dose D_1 est d'une part identique à la dose témoin D_0 et D_2 , d'autre part la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique à la dose D_3 ; Cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 ; Tandis qu'après 21 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence quatre groupes différents : le premier groupe **A** : contient la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et le quatrième groupe **D** : contient la dose D_3 , les quatre groupes sont parfaitement séparés chaque dose est différente des trois autres doses et n'est identique à aucune d'entre elles. (**Tab.08**)

c) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Catalase (CAT) :

La figure (33), montre les effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Catalase (CAT) chez la lentille d'eau *Lemna minor*, on note une augmentation en CAT très significative ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin après 3 jours de traitement, et hautement significative ($p \leq 0.001$) par

Paramètres enzymatiques

rapport au témoin après 14 et 21 jours d'exposition à l'herbicide, ceci est confirmé par l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose). (Tab.08)

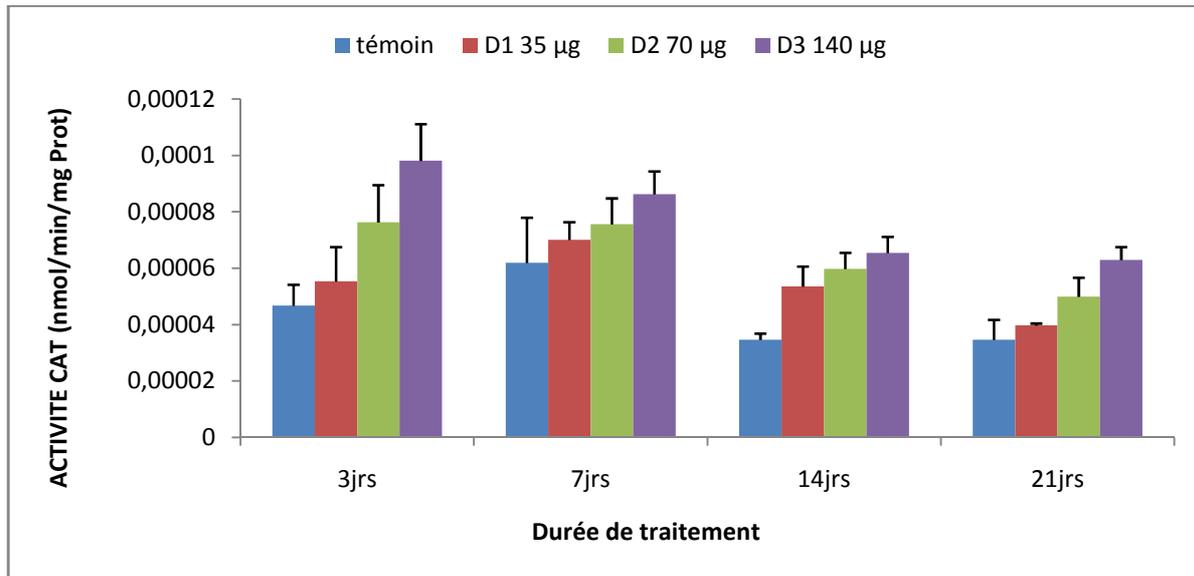


Figure 33 : Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité catalase (CAT) (nmol/min/mg Prot) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$).

Le test de **DUNNETTE** indique pour l'activité catalase (CAT) X_{10} , après 3 jours de traitement, que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** révèle que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques à la dose témoin D_0 ; Après 14 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 . (Tab.08)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour l'activité catalase (CAT) X_{10} , après 3 jours de traitement, des groupes différents : le premier groupe **A** : comprend les doses D_0 , D_1 et D_2 , le deuxième groupe **B** : se compose des doses D_2 et D_3 . La dose D_3 est identique à la dose D_2 et différente des doses D_1 et de la dose témoin D_0 quoique ces deux dernières sont identiques à la dose D_2 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec la dose témoin D_0 ; Après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents le premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , le

Paramètres enzymatiques

deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , et D_2 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et D_3 . La dose D_2 est identique d'une part à la dose D_1 et à D_3 , d'autre part différente de la dose témoin D_0 , les doses D_1 et D_3 sont différentes entre elles et différentes de la dose témoin D_0 ; Après 21 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 , D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 , D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_2 et D_3 , la dose D_1 est d'une part identique à la dose témoin D_0 et à D_2 , d'autre part la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique à la dose D_3 , cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 . (Tab.08)

d) Effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Glutathion S-Transférase (GST)

La figure (34), montre les effets du Calliofop 36 EC sur l'activité Glutathion S-Transférase (GST), chez les feuilles de *Lemna minor*, l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (Tab.08), met en évidence une augmentation en GST très significative ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin après 7 et 14 jours de traitement par le Calliofop 36EC, et une augmentation la l'activité GST hautement significative ($p \leq 0.001$) par rapport au témoin après 21 jours de traitement.

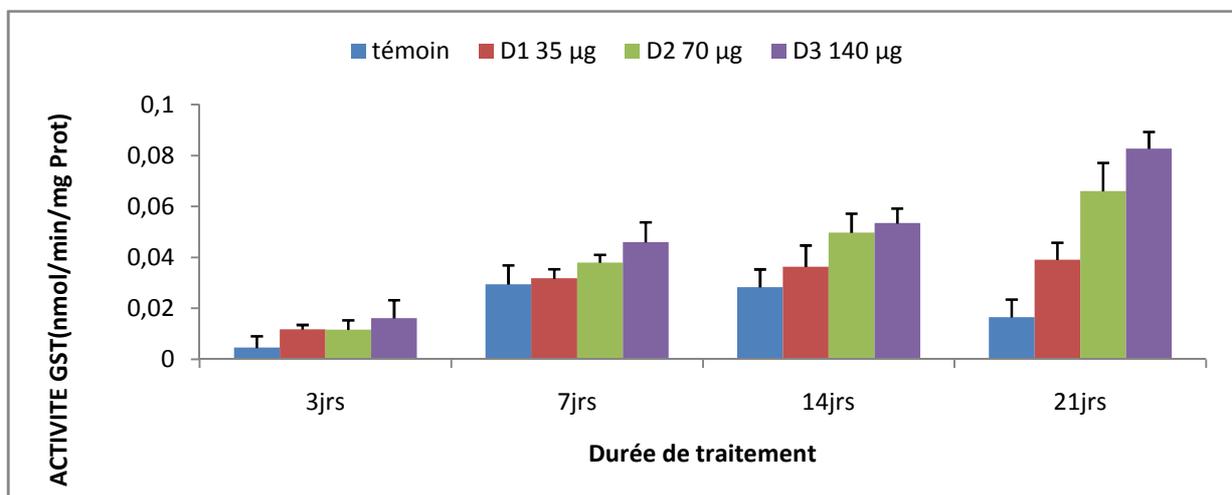


Figure 34 : Effet du Calliofop 36EC sur l'activité Glutathion S-Transférase (GST) (nmol/min/mg Prot) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$)

Le test de DUNNETTE indique pour l'activité Glutathion S-Transférase (GST) X_{11} , après 3 jours de traitement, que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques

Paramètres enzymatiques

à la dose témoin D_0 ; Après 7 jours de traitement, le test de DUNNETTE montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 , après 14 jours de traitement, le test de DUNNETTE montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de DUNNETTE indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 . (Tab.08)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour l'activité Glutathion S-Transférase (GST) X_{11} , après 3 jours de traitement, un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec la doses témoin D_0 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents le premier groupe **A** : comprend les doses D_0 , D_1 et D_2 , le deuxième groupe **B** : se compose des doses D_2 et D_3 . La dose D_3 est identique à la dose et D_2 et différente des doses D_1 et de la dose témoin D_0 quoique ces deux dernières sont identiques à la dose D_2 ; Cependant, après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : comprend les doses D_1 , D_2 et D_3 . La dose D_1 est identique à la doses témoin D_0 et aux doses D_2 et D_3 , quoique ces deux dernières sont différentes de la dose témoin D_0 , tandis qu'après 21 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose de la dose D_0 la dose témoin, le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , et le troisième groupe **C** : contient les doses D_2 et D_3 . Les doses D_2 et D_3 sont identiques entre elles et différentes des doses témoin et de la dose D_1 qui sont différentes entre elles. (Tab.08)

3.2 Effets du Calliofop 36EC sur les biomarqueurs non enzymatiques

3.2.1 *Elodea canadensis*

Tableau 09 : Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY concernant les paramètres non enzymatiques des feuilles de *Elodea canadensis* après 3, 7, 14 et 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D₀ témoin, D₁ = 35µg, D₂ = 70µg, D₃ = 140 µg).

Variables	ddl	SCE	CM	Fobs	P	Dunnette	Tukey
X ₁₁ -3jour	3	0,0000000	0,0000000	13,47	0,004 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ ,D ₁ (A),D ₂ (A,B), D ₃ (B)
X ₁₁ -7jour	3	0,0000000	0,0000000	2,98	0,118 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₁₁ -14jour	3	0,0000000	0,0000000	31,24	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ (B) D ₂ (B,C),D ₃ (C)
X ₁₁ -21jour	3	0,0000000	0,0000000	21,23	0,001 ***	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ (A),D ₁ (A,B),D ₂ (A,B,C), D ₃ (B,C)
X ₁₃ -3jour	3	0,0041067	0,0013689	42,37	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ ,D ₁ (A), D ₂ (B),D ₃ (C)
X ₁₃ -7jour	3	0,0068976	0,0022992	10,71	0,008 **	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ (A),D ₁ D ₂ , (A,B), D ₃ (B)
X ₁₃ -14jour	3	0,0008133	0,0002711	4,54	0,055 *	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₁₃ -21jour	3	0,0005877	0,0001959	2,45	0,161 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)

X₁₁: GSH

X₁₃: MDA

a) Effets du Calliofop 36 EC sur Le Glutathion (GSH)

La figure (35), illustre les effets du Calliofop 36 EC sur Le Glutathion (GSH) chez la plante aquatique *Elodea canadensis*, on note une diminution du taux du GSH, très significative ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin après 7 et 14 jours de traitement, et une baisse en GSH hautement significative ($p \leq 0.001$) par rapport au témoin après 21 jours de traitement par le Calliofop, ceci est confirmé par l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose). (Tab.09)

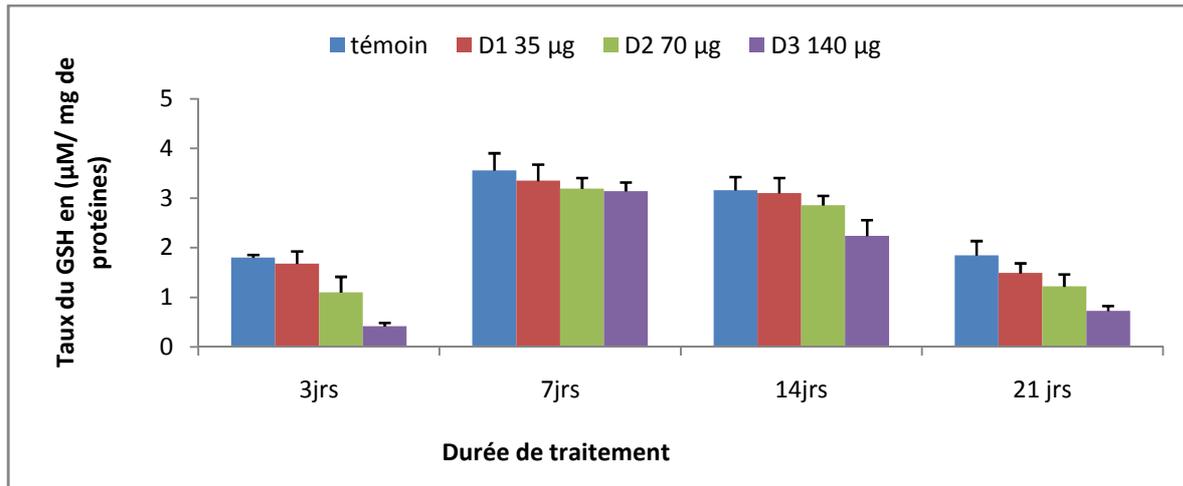


Figure 35: Effet du Calliofop 36EC sur Le Glutathion (GSH) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez *Elodea canadensis* ($m \pm SD$; $n=3$)

Le test de **DUNNETTE** indique pour le taux du Glutathion (GSH) X_{11} , après 3 jours de traitement, que le dose témoin D_0 est identique aux doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** révèle que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques à la dose témoin D_0 ; Après 14 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que la dose témoin D_0 est identique au doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 . (**Tab.09**)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour le taux du Glutathion (GSH) X_{11} , après 3 jours de traitement, deux groupes différents : le premier groupe **A** : comprend les doses D_0 , D_1 et D_2 , le deuxième groupe **B** : se compose des doses D_2 et D_3 . La dose D_3 est identique à la dose D_2 et différente des doses D_1 et D_0 quoique ces deux dernières sont identiques à la dose D_2 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec la dose témoin D_0 ; Après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_1 , et D_2 , le troisième groupe **C** : contient la dose D_2 , et D_3 . La dose D_2 est identique d'une part à la dose D_1 et D_3 et d'autre part différente de la dose témoin D_0 , les dose D_1 et D_3 sont différentes entre elles et différentes de la dose témoin D_0 ; Après 21 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence trois

Paramètres enzymatiques

groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 , D_1 , le deuxième groupe **B** : contient les doses D_1 , D_2 , et le troisième groupe **C** : est composé des doses D_2 et D_3 , la dose D_1 est d'une part identique à la dose témoin D_0 et D_2 , d'autre part la D_2 est différente de la dose témoin D_0 , et identique à la dose D_3 ; Cependant la dose témoin D_0 est différente de la dose D_3 . (Tab.09)

b) Effets du Calliofop 36 EC sur le malondialdéhyde (MDA) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines)

La figure (36), met en évidence les effets du Calliofop 36 EC sur malondialdéhyde (MDA) chez *Elodea canadensis*, l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (Tab.09), indique une augmentation du taux de MDA chez les feuilles de *E. canadensis*, cette augmentation est hautement significative ($p \leq 0.001$) par rapport au témoin après 3 jours de traitement, et très significative ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin après 7 jours de traitement, et significative ($p \leq 0.05$) par rapport au témoin après 14 jours d'exposition au Calliofop 36EC.

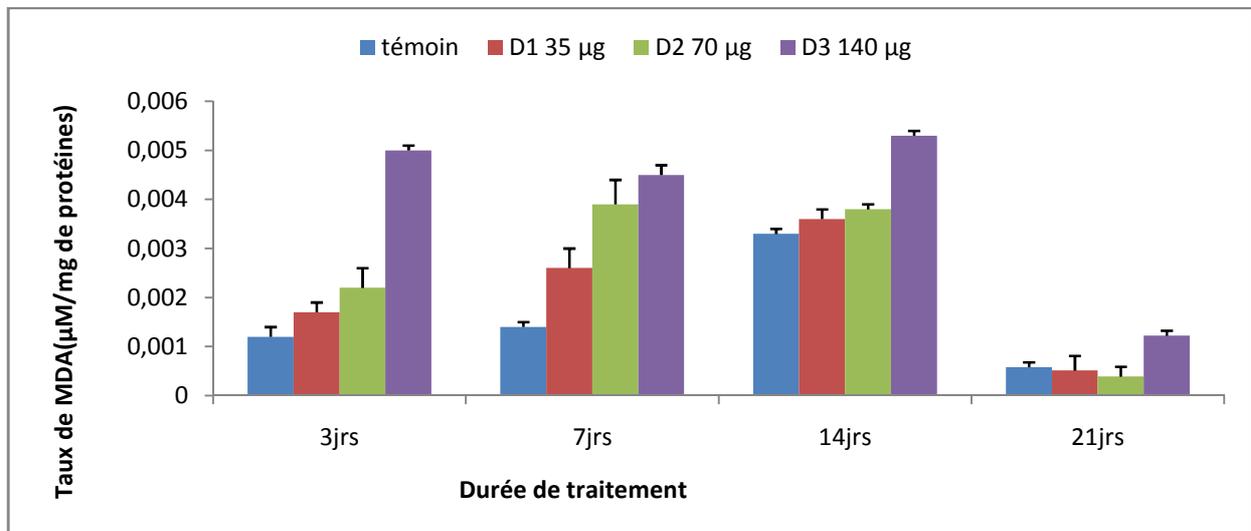


Figure 36 : Effet du Calliofop 36EC sur le malondialdéhyde (MDA) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez *Elodea canadensis* ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$)

Le test de **DUNNETTE** indique pour le taux du Malondialdéhyde (MDA) X_{13} , après 3 jours de traitement, que la dose témoin D_0 est différente des trois autres doses D_1 , D_2 et D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que le dose témoin D_0 est identique au doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 , après 14 jours de traitement, le test de

Paramètres enzymatiques

DUNNETTE montre que la dose témoin D_0 est identique aux doses D_1 , D_2 , et différente de la dose D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de DUNNETTE révèle que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques à la dose témoin D_0 . (**Tab.09**)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour le taux du Malondialdéhyde (MDA) X_{13} , après 3 jours de traitement, trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 et D_1 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_2 , et le troisième groupe **C** : contient la dose D_3 . La dose témoin est identique à la dose D_1 est différente des doses D_2 et D_3 , ces deux dernières sont différentes entre elles et différentes de la dose D_1 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents : le premier groupe **A** : comprend les doses D_0 , D_1 et D_2 , le deuxième groupe **B** : se compose des doses D_2 et D_3 . La dose D_3 est identique à la dose D_2 et différente des doses D_1 et D_0 quoique ces deux dernières sont identiques à la dose D_2 ; Après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec la doses témoin D_0 ; Après 21 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec la dose témoin D_0 . (**Tab.09**)

3.2.2 *Lemna minor*

Tableau 10 : Analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) avec les tests de comparaison DUNETTE et TUKEY concernant les paramètres non enzymatiques des feuilles de *Lemna minor* après 3, 7, 14 et 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC (D₀ témoin, D₁= 35µg, D₂= 70µg, D₃= 140 µg).

Variables	ddl	SCE	CM	Fobs	P	Dunnette	Tukey
X ₁₂ -3jour	3	0,0041067	0,0013689	42,37	0,000 ***	D ₀ (A)	D ₀ D ₁ (A), D ₂ (B) D ₃ (C)
X ₁₂ -7jour	3	0,0068976	0,0022992	10,71	0,008 **	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ D ₁ (A), D ₂ (A,B),D ₃ (B)
X ₁₂ -14jour	3	0,0008133	0,0002711	4,54	0,055 *	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ (A,B) ,D ₃ (B)
X ₁₂ -21jour	3	0,0006350	0,0002117	2,57	0,150 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₁₄ -3jour	3	0,069492	0,023164	10,01	0,009 **	D ₀ ,D ₁ (A)	D ₀ D ₁ (A), D ₂ (A,B),D ₃ (B)
X ₁₄ -7jour	3	0,062700	0,020900	13,70	0,004 **	D ₀ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ D ₃ (B)
X ₁₄ -14jour	3	0,044492	0,014831	2,97	0,119 NS	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ ,D ₃ (A)
X ₁₄ -21jour	3	0,062333	0,020778	7,12	0,021 *	D ₀ ,D ₁ ,D ₂ (A)	D ₀ (A), D ₁ ,D ₂ (A,B) ,D ₃ (B)

X₁₂: GSH

X₁₄: MDA

a) Effets du Calliofop 36 EC sur Le Glutathion (GSH)

La figure (37), illustre les effets du Calliofop 36 EC sur le contenu en Glutathion (GSH) chez les feuilles de la lentille d'eau : *Lemna minor*, l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose) (Tab.10), met en évidence une baisse de GSH, cette baisse est hautement significative ($p \leq 0.001$) par rapport au témoin, après 3 jours de traitement, et très significative ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin après 7 jours de traitement, et significative ($p \leq 0.05$) par rapport au témoin après 14 jours de traitement par la molécule du Calliofop 36EC.

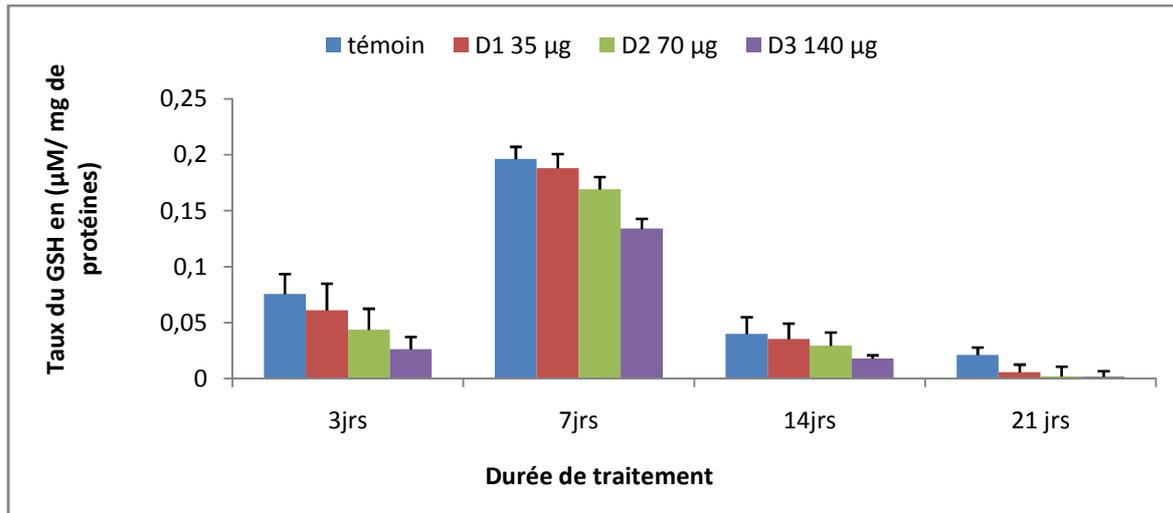


Figure 37: Effet du Calliofop 36EC sur Le Glutathion (GSH) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez *Lemna minor* ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$)

Le test de **DUNNETTE** indique pour le taux du Glutathion (GSH) X_{12} ; Après 3 jours de traitement, que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 14 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 21 jours de traitement, le test de **DUNNETTE** révèle que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques à la dose témoin D_0 . (**Tab.10**)

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY** nous a révélé pour le taux du Glutathion (GSH) X_{12} , après 3 jours de traitement, trois groupes différents : le premier groupe **A** : se compose des doses D_0 (dose témoin) et D_1 , le deuxième groupe **B** : contient la dose D_2 , et le troisième groupe **C** : contient la dose D_3 . La dose témoin est identique à la dose D_1 est différente des dose D_2 et D_3 , ces deux dernières sont différente entre elles et différentes de la dose D_1 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes différents le premier groupe **A** : comprend les doses D_0 , D_1 et D_2 , le deuxième groupe **B** : se compose des doses D_2 et D_3 . La dose D_3 est identique à la dose D_2 et différente des doses D_1 et la D_0 quoique ces deux dernières sont identique a la dose D_2 ; Après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes de doses : le premier groupe **A** : comprend la dose témoin D_0 et D_1 et D_2 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 et D_3 , les doses D_1 et D_2 sont d'une part

Paramètres enzymatiques

identiques à la dose témoin D_0 et à la dose D_3 , mais d'une autre part les dose D_0 et D_3 sont différentes : Après 21 jours de traitement, le test de TUKEY a permis de mettre en évidence un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec la dose témoin D_0 . (**Tab.10**)

b) Effets du Calliofop 36 EC sur le taux du malondialdéhyde (MDA) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines)

La figure (38), indique les effets du Calliofop 36 EC sur le malondialdéhyde (MDA) chez les feuilles de *Lemna minor*, on remarque une augmentation en MDA très significative ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin après 3 et 7 jours de traitement, et significative ($p \leq 0.05$) par rapport au témoin après 21 jours de traitement. Ces résultats sont confirmés par l'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification (dose). (**Tab.10**)

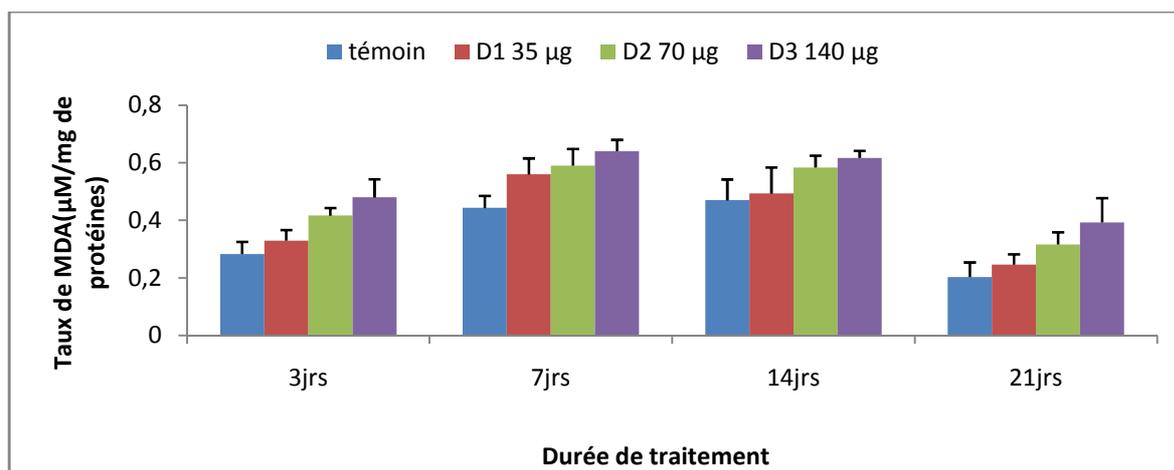


Figure 38: Effet du Calliofop 36EC sur le malondialdéhyde (MDA) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez *Lemna minor* ($m \pm SD$; $n = 3$)

Le test de DUNNETTE indique pour le taux du Malondialdéhyde (MDA) X_{14} , après 3 jours de traitement, que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 ; Après 7 jours de traitement, le test de DUNNETTE indique que la dose témoin D_0 est différente des trois autres dose D_1 , D_2 et D_3 ; Après 14 jours de traitement, le test de DUNNETTE révèle que les doses D_1 , D_2 et D_3 sont identiques entre elles, et identiques à la dose témoin D_0 ; Après 21 jours de traitement, le test de DUNNETTE montre que les doses D_0 , D_1 , D_2 , sont identiques entre elles et différentes de la dose D_3 . (**Tab.10**)

Paramètres enzymatiques

Le test de classement des groupes homogènes HSD de **TUKEY**, nous a révélé pour le taux de Malondialdehyde (MDA) \bar{X}_{14} , après 3 jours de traitement, deux groupes différents : le premier groupe **A** : comprend les doses D_0 , D_1 et D_2 , le deuxième groupe **B** : se compose des doses D_2 et D_3 . La dose D_3 est identique à la dose D_2 et différente des doses D_1 et D_0 quoique ces deux dernières sont identiques à la dose D_2 ; Après 7 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes de doses : le premier groupe **A** : se compose de la dose témoin D_0 , et le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 , et D_3 ces doses sont identiques entre elles et différentes de la dose témoin D_0 ; Cependant, après 14 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence un seul groupe **A** : il comprend les doses : D_0 , D_1 , D_2 , et D_3 , donc les trois doses D_1 , D_2 , et D_3 sont identiques entre elles et identiques avec la dose témoin D_0 , tandis qu'après 21 jours de traitement, le test de **TUKEY** a permis de mettre en évidence deux groupes de doses : le premier groupe **A** : comprend la dose témoin D_0 et la dose D_1 et D_2 ; Le deuxième groupe **B** : est composé des doses D_1 , D_2 et D_3 , les doses D_1 et D_2 sont d'une part identiques à la dose témoin D_0 et à la dose D_3 , mais d'une autre part, les dose D_0 et D_3 sont différentes. (**Tab.10**)

- **Discussion**

La résistance par détoxification correspond à l'utilisation d'enzymes qui existent dans les plantes et qui ont pour rôle de protéger les cellules en métabolisant des produits xénotoxiques (**Eerd et al., 2003**). Les herbicides présentent certains groupes chimiques communs avec ceux des produits xénotoxiques et sont donc reconnus comme tels (**Yuan et al., 2007**). Chez les plantes résistantes et sensibles, une partie de ces enzymes est capable d'effectuer la dégradation d'herbicides. Les plantes résistantes montrent une activité de dégradation supérieure à celle des plantes sensibles ; les plantes résistantes sont donc les seules à être capables de dégrader l'herbicide assez vite pour éviter qu'il n'ait le temps d'atteindre sa cible. La résistance à un herbicide basée sur la métabolisation peut être due à deux scénarii: soit à une mutation d'un gène de métabolisation existant qui augmenterait l'affinité pour l'herbicide de l'enzyme pour lequel il code, soit à une augmentation de la quantité d'enzymes capables de dégrader cet herbicide, due à une surexpression des gènes codant pour ces derniers (**Eerd et al., 2003**). Cette dernière hypothèse est la plus probable, dans la plupart des cas. La métabolisation des herbicides se déroule en trois phases (**Hatzios et Burgos, 2004**).

Paramètres enzymatiques

Nous nous sommes focalisés, sur le suivi de certains paramètres, considérés comme biomarqueurs de la Toxicité. Il s'agit entre-autres des activités enzymatiques de APX, GPX, CAT et GST ; Egalement de paramètres aussi importants tel que 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 chez les deux Macrophytes en question : *Elodea canadensis* et *Lemna minor* , sous l'effet du Calliofop 36EC à différents temps de traitement 3, 7, 14 et 21 jours et à des concentrations qui varient de 35µg à 140µg.

- **Qu'en-est-il de l'activité APX?**

Les pesticides peuvent agir comme des xénobiotiques et induire des contraintes abiotiques dans les tissus végétaux (CA Moldes *et al.*, 2008, Teisseire, H., Vernet, G., 2001, W. Yu *et al.*, 2007). Dans la présente étude, l'induction de l'activité d'antioxydant enzymatique APX suggère que l'herbicide a évoqué le stress oxydatif dans les tissus de la lentille d'eau et de *Elodea canadensis*. D'ailleurs, l'intensité des réponses antioxydantes connectées avec augmentation significative de l'activité APX était plutôt dépendante de la durée du traitement, ainsi que de la concentration élevée de l'herbicide. Les auteurs ont conclu que la tolérance est le résultat de l'accumulation d'antioxydants, protégeant les lipides membranaires contre la peroxydation. Le système antioxydant enzymatique des végétaux est composé de CAT, SOD, GPX, APX, l'ascorbate oxydase (AO), déshydroascorbate réductase (DHAR), monodehydroascorbate réductase (MDHAR), la glutathion réductase (GR) et TPS (Goyal. *et al.*, 2010).

Selon une étude sur la lentille d'eau « *Lemna minor* » exposé a Roundup Ultra 360SL (herbicide) et afin d'évaluer la Phytotoxicité de ce xénobiotique, El zbieta Kielak *et al.*, (2011) ont constaté une augmentation significative de l'APX, ceci a été expliqué par le fait que l'expression des enzymes antioxydantes comme l'APX, peut protéger les membranes biologiques en formant des complexes avec le fer (II) et la tête polaire de la molécule de phospholipide qui change la sensibilité de fer à auto-oxydation. En outre, la putrescine exogène accrue l'importance relative de la voie respiratoire alternative dans des conditions restrictives de la disponibilité de l'ADP et de Pi, la stabilisation de l'état de réduction de l'ubiquinone piscine, et d'atténuer la formation de ROS.

Paramètres enzymatiques

Geoffroy et al., (2004) auteur d'une étude comparative entre *Lemna minor* et *Scenedesmus obliquus*, deux Macrophyte exposées à l'herbicide Flumioxazine, a expliqué que la Stimulation de l'APX peut être considérée en réponse à la concentration accrue de ROS cellulaire, car le mode d'action flumioxazine, induit une accumulation de protoporphyrine IX dans le cytosol. Pour faire face à ces ROS activés et peroxydes, les plantes réagissent par de multiples adaptations, par exemple des systèmes d'activation des enzymes antioxydantes.

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

Nous avons mis en évidence une augmentation de l'activité catalytique au niveau des feuilles de *Elodea canadensis* et *Lemna minor* traitées par les différentes concentrations du Calliofop 36EC comparativement au témoin

Une étude menée par **Maria et al., (2009)** sur l'Écophysiologie de la tolérance de *Elodea canadensis* à l'exposition au nickel, on constaté une augmentation de l'activité CAT. Cette enzyme est impliquée dans le piégeage du peroxyde d'hydrogène et radical superoxyde - ROS, affectant la structure cellulaire et métabolisme (**Scandalios, 1993**).

L'effet stimulant observé chez les deux plantes suite au traitement par le Calliofop 36 EC, et par rapport à l'activité CAT, l'une des principales enzymes antioxydantes dans la cellule, constitue une réponse face à la surproduction de H_2O_2 ; Ainsi l'absorption des matières actives contenues dans le pesticide, serait à l'origine de la synthèse de radicaux libres en quantités importantes, générant ainsi un véritable stress oxydatif (**Meksem. et al., 2007**), qui induit une mort cellulaire, programmée sur des sites infectés, limitant l'expansion de l'infection. Les polyamines empêchent la synthèse de ROS et piègent les radicaux hydroxyles, mais ils peuvent également être métabolisés en produisant de grandes quantités de H_2O_2 qui peuvent altérer les réponses au prochain stress induit, (**Mohapatra et al., 2009**).

La dégradation des polyamines par la diamine oxydase (DAO) et par les polyamines oxydase (PAO) générée lors de la production de H_2O_2 , est une réponse hypersensible (RH) contre le virus de la mosaïque du tabac (TMV). (**Cona .A, et al .,2006 ; Yoda .H, et al.,2009**). Le peroxyde d'hydrogène induit la mort cellulaire programmée (PCD) sur les sites infectés, ce qui limite l'expansion de l'infection. Le H_2O_2 est principalement décomposé par la CAT, et par les peroxydases en l'absence de CAT (chloroplastes). Ce Système antioxydant enzymatique végétal est composé de CAT, SOD, Ascorbate oxydase GOPX, APX,

Paramètres enzymatiques

déshydroascorbate réductase (Dhar), réductase monodehydroascorbate (MDHAR), glutathion réductase (GR) (Goyal *et al.*, 2010).

Le peroxyde d'hydrogène, en tant que ROS, agit comme molécules cytotoxiques et peut être aussi un second messenger dans la signalisation cascade de la transduction. Le peroxyde d'hydrogène, peut causer un stress oxydatif, lié à des changements, dans l'activité des enzymes antioxydantes (Kubis *et al.*, 2008). Dans la présente étude l'induction d'une activité enzymatique antioxydante la CAT suggère, que l'herbicide utilisé induit un stress oxydatif dans les tissus de la lentille d'eau et de *E. canadensis*. Enfin, on remarque que l'importance des réponses enzymatiques antioxydantes (CAT) est principalement liée à la durée du traitement.

- **L'activité la Gaïacol-péroxydases (GPX) ?**

Contrairement à leurs homologues animales, les GPX végétales ne possèdent plus de groupement prosthétique sélénium-cystéine dans leur site catalytique, mais seulement un résidu cystéine (Navrot *et al.*, 2006). Bien que les GPX possèdent encore la capacité d'utiliser le GSH pour réduire le H₂O₂, des peroxydes lipidiques ou des hydroperoxydes organiques (Ursini *et al.*, 1995); Mullineaux *et al.*, (1998), elles utilisent de façon préférentielle et plus efficace les thioredoxines comme substrat (Navrot *et al.*, 2006). Certaines GPX végétales sont même incapables d'utiliser le GSH.

L'activité de la GPX varie considérablement selon les espèces végétales et les conditions de stress (Gill et Tuteja, 2010), Les activités peroxydase élevés dans les plantes aquatiques ont été liés à la tolérance aux polluants (Lavid *et al.*, 2001;.. Roy *et al.*, 1992), bien que la controverse existe chez *Lemna minor* traitée avec des xénobiotiques, comme les pesticides, l'activité GPX n'a pas été stimulée (Mitsou *et al.*, 2006;.. Teisseire et Vernet, 2001) ou une induction transitoire a été détectée (Teisseire et Vernet, 2000). Dans nos expériences, cette enzyme joue un rôle principal chez *L. minor* et *E. canadensis*, il ya eu une augmentation très significative ($p \leq 0,001$) par rapport au témoin et une diminution très significatif ($p \leq 0,01$) chez *Elodea canadensis* après 7 jours de traitement. Ces résultats sont en accord avec la littérature qui montre que la régulation de la GPX à la hausse est fortement induite au début d'un événement, et diminue lentement dans le temps (Passardi *et al.*, 2005).

- **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, l'amélioration de la tolérance aux contraintes abiotiques chez les plantes est attribuée à l'augmentation de leur capacité de détoxification des ERO, nous permet ainsi de confirmer indirectement, la présence des radicaux libres induits par le traitement au Calliofop 36EC, 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'oxygènes 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 prix 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 détoxication 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 feuilles, en présence de différentes concentrations du Calliofop 36EC, cette déplétion peut être expliquée par la liaison directe du glutathion au composant du pesticide (**Barillet, 2007**). Nos résultats concordent avec ceux de **Pourrut ,(2008)** qui au cours de l'étude sur Implication du stress oxydatif, dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*, ils ont constaté que les feuilles sont très sensibles à de faibles concentrations en plomb. Une accumulation « préventive » de PC (Les phytochélatines) dans les feuilles, en l'absence de métal, permettrait ainsi de protéger, du moins en partie, les cellules foliaires et l'appareil photosynthétique.

La synthèse importante de phytochélatines n'a pas été corrélée avec une diminution du pool de GSH comme cela est régulièrement rapporté (**Clemens, 2006a; Clemens, 2006b**). Le maintien de la stabilité de ce pool est très certainement dû à l'activation très importante de la glutathion réductase (GR), catalysant la régénération du GSH. Ce tripeptide joue un rôle essentiel dans la détoxication des métaux en les chélatant directement, ou en étant utilisé par

Paramètres enzymatiques

la PCS pour synthétiser des PC. Il joue également un rôle fondamental dans la régulation du statut redox des cellules et dans la détoxification directe ou indirecte des ERO, via le cycle Asada-Halliwell-Foyer. Nos résultats ont révélé que de l'activation de la GR était toujours corrélée à l'apparition de flambées oxydatives, aussi bien dans les feuilles de *Elodea canadensis* que dans celles de *Lemna minor*.

L'ensemble de ces résultats suggère que le GSH, au-delà de son utilisation dans la chélation, jouerait un rôle direct dans la détoxification des ERO. Il pourrait constituer la première ligne de défense de la plante contre la flambée oxydative générée par le Calliofop 36EC.

Parallèlement à la diminution du taux de GSH, nous avons noté une augmentation de l'activité GST au niveau des feuilles en présence du Calliofop 36EC

Outre les enzymes antioxydantes ci-dessus, le glutathion et les glutathion-associés métabolismes fournissent une autre ligne de défense pour la protection des plantes contre les formes d'oxydation et les autres charges. Parmi eux, la glutathion-S-transférase (GST) joue un rôle essentiel dans la défense de l'organisme contre les électrophiles réactifs en les retirant par conjugaison avec le GSH (Maher, 2005). En outre, la GST est omniprésente protéines multifonctionnelles impliquées dans la détoxification des substances toxiques, qui catalyse la conjugaison de GSH à divers substrats électrophiles (Huang *et al.*, 2008). Dans notre expérience, l'élévation significative de la GST a suggéré que la désintoxication semble procéder par conjugaison avec le glutathion par la GST. Lorsque la plus grande concentration de Calliofop 36EC pour deux macrophytes, dans la mesure où les dommages de ROS a été au-delà de la détoxification de la GST.

Cette augmentation est une réponse au stress oxydatif provoqué par la présence des pesticides, 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 (Persia, 2004)

Paramètres enzymatiques

Le Malonedialdéhyde (MDA)

La production d'hydroperoxydes lipidiques est due à l'action enzymatique des lipoxygénases (LOX) (**Brash, 1999; Blee, 2002; Liavonchanka et Feussner, 2006**). Les LOX catalysent l'insertion d'une molécule d'oxygène en 9^{ème} et 13^{ème} position sur les AGPI libres 18:2 (acide linoléique) et 18:3 (acide linoléique), et forment des hydroperoxydes lipidiques. Lors d'un stress, la part de cette production enzymatique dans la production totale d'hydroperoxydes est très importante. Dans le cas de la réaction hypersensible, elle peut atteindre 30 à 50 % (**Montillet et al., 2005**). Ces LOOH sont ensuite métabolisés par plusieurs cascades enzymatiques, en une vaste classe de composés métaboliques secondaires, appelés oxylipines (**Blee, 2002; Creelman et Mulpuri, 2002; Howe et Schillmiller, 2002; Chehab et al., 2007**). Ces oxylipines ont une importance physiologique considérable, puisque de nombreuses molécules, telles que l'acide jasmonique ou le malondialdéhyde (MDA), participent à la régulation de processus physiologiques (**Blechert et al., 1995; Kramell et al., 2000; Blee, 2002; Almeras et al., 2003; Farmer et al., 2003; Weber et al., 2004**). Les deux voies de peroxydation (enzymatique ou non) conduisent à la formation de nombreux aldéhydes (**Mueller, 2004**) comme le MDA ou le 4-Hydroxynonéal (4HNE) interagissant avec les macromolécules, et en particulier l'ADN.

La peroxydation lipidique, si elle est importante, perturbe la fluidité membranaire, rend la membrane plus perméable, modifiant ainsi les homéostasies chimiques et redox cellulaires. L'altération des membranes thylakoïdales et chloroplastiques entraîne des perturbations au niveau des CTE, conduisant à une augmentation de la production d'ERO dans ces zones et amplifiant ainsi le phénomène.

La peroxydation des lipides, ce qui diminue l'intégrité des cellules et des membranes des organelles, est l'un des effets les plus importants de métaux lourds dans les plantes (**Schutzendubel et al., 2002**), (**Singh et al., 2006**). Le malondialdéhyde (MDA) est un produit cytotoxique de la peroxydation lipidique et un indicateur de la production de radicaux libres et des lésions tissulaires consécutive (**Ohkawa. et al., 1979**).

L'augmentation du niveau de MDA est considéré comme un indicateur général de stress oxydatif (**Cho UH, Seo NH, 2005**), l'augmentation du MDA a déjà été trouvé dans *L. minor* et d'autres espèces, après une exposition au Cd (**Hou W et al., 2007**), (**Tkalec et al.,**

Paramètres enzymatiques

2008) ou Cu (**Razinger et al., 2007**) Nos résultats ont montré une augmentation significative du MDA dans toutes les plantes exposées dès le jour 7 de traitement.

La plus haute teneur en MDA est trouvé dans les plantes traitées avec les plus grandes concentrations de l'herbicide, la raison de la diminution du MDA est la durée de traitement, cela cause la nécrose centrale ou la mort, donc pas de MDA a généré dans la cellule.

Le dosage du taux de MDA réagissant avec l'acide thiobarbiturique, au niveau des feuilles cultivées en présence des concentrations croissantes en herbicide montre que, les macrophytes accumulent 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, 2001**). L'augmentation de la peroxydation des lipides suite à l'addition de Calliofop 36EC, 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 ont montre une augmentation des taux de MDA chez *Lemna minor* en présence du Aluminium.

- **Conclusion**

Les résultats obtenus dans cette étude met en évidence le potentiel d'accumulation des xénobiotiques dans les plantes aquatiques et la capacité de ces plantes pour survivre aux xénobiotiques au niveau de ces macrophytes il existe des enzymes antioxydantes qui protègent les cellules du métabolisme du pesticide en question, les enzymes qui jouent un rôle crucial dans la désintoxication testée dans cette expérience sont la GST, APX, GPX et la peroxydation lipidique.

L' induction des activités enzymatiques était la réponse des plantes au stress oxydatif causé par le traitement de l'herbicide administré, alors que si nous avons conclu de ces faits que les deux plantes aquatiques utilisées dans cette expérience *Elodea canadensis* et *Lemna minor* sont efficaces pour l'extraction des pesticides, dans les eaux usées, en les absorbant et

Paramètres enzymatiques

en utilisant la défense des enzymes métabolisées, ces deux macrophytes ont des seuils de tolérance différents dans le temps.



Chapitre VI

Métabolisme

Energétique

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).

- **Les ERO : Jekyll et Hyde cellulaires ?**

L'oxygène est indispensable à la vie des cellules aérobies. Cependant, les espèces réactives de l'oxygène générées par le métabolisme oxydatif sont aussi considérées comme un poison de l'organisme. En effet, les ERO sont impliquées dans de nombreux dysfonctionnements des organismes, et en particulier dans de nombreuses pathologies humaines. Elles sont également, en partie, responsables du vieillissement cellulaire.

Les ERO ont longtemps été seulement considérées comme des déchets du métabolisme oxydatif. Toutefois, les cellules possèdent de nombreuses enzymes capables de générer des ERO. Au vu des effets néfastes de ces ERO et du coût énergétique pour la cellule qu'impose leur détoxification, quelles raisons peuvent expliquer la présence de nombreux systèmes de production d'ERO ? Si la lutte contre les pathogènes est une explication, elle ne suffit pas à justifier la redondance de ces systèmes enzymatiques. Les ERO semblent donc nécessaires à la vie des cellules aérobies. **(Pourrut, 2008).**

Le système antioxydant des plantes est également largement redondant. Des études utilisant des mutants n'exprimant pas ou surexprimant des molécules ou des enzymes antioxydantes n'ont pas donné les résultats attendus. Les plantes déficientes ne se sont pas forcément montrées plus sensibles à des stress, et les plantes surexprimant des antioxydants se sont révélées n'être pas moins, voire plus sensibles, à des stress que les plantes témoins **(Smirnoff, 1998; Foyer et Noctor, 2000; Arora *et al.*, 2002; Edreva, 2005)**. Ces résultats mettent en évidence le fait que la régulation de la production d'ERO par les systèmes antioxydants est beaucoup plus complexe et plus fine que l'on ne le pensait. Cette régulation

Métabolisme énergétique

permet la transduction de signaux de stress dans la cellule. La production d'ERO apparaît donc, désormais, comme un événement aussi indispensable à la vie cellulaire que potentiellement néfaste lorsqu'il est excessif.

- **Importance physiologique des ERO et signalisation oxydative**
 - **Rôles physiologiques**

Contrairement aux cellules animales, les cellules végétales génèrent de façon continue des ERO. En dehors des mitochondries, chloroplastes et peroxysomes, des quantités importantes d'ERO (en grande partie de l' H_2O_2) sont produites au niveau des parois. Cette libération localisée de H_2O_2 répond à deux rôles contradictoires. D'une part, elle contribue à un relâchement des molécules composant la paroi permettant la croissance cellulaire (**Laloi *et al.*, 2004; Passardi *et al.*, 2004b**). D'autre part, le peroxyde d'hydrogène, en oxydant les différents composants pariétaux, induit la formation de liaisons transversales entre ces composants. Ces liaisons limitent l'élongation cellulaire en favorisant la rigidification pariétale (**Laloi *et al.*, 2004; Passardi *et al.*, 2004b**). La rigidification de la paroi secondaire, accentuée par la présence de H_2O_2 , participe à la synthèse de lignine (**Wojtaszek, 1997; Passardi *et al.*, 2004b**).

Les ERO participent également à des processus physiologiques comme la fermeture des stomates (**Pei *et al.*, 2000**), le gravitropisme (**Joo *et al.*, 2001**), la subérisation des cellules épidermiques (**Bernards *et al.*, 1999; Keren-Keiserman *et al.*, 2004**), ou encore la régulation des canaux calciques et potassiques (**Demidchik *et al.*, 2003**).

Les organismes végétaux ne contiennent pas de systèmes immunitaires, c'est-à-dire des cellules spécialisées dans la lutte contre les divers microorganismes pathogènes. Chaque cellule végétale est capable de se défendre par ses propres moyens contre ces microorganismes. Cette réponse cellulaire est l'aspect le plus connu du rôle des ERO chez les plantes. En effet, au contact de certains champignons ou bactéries, différentes enzymes apoplastiques ou membranaires produisent une flambée oxydative (**Levine *et al.*, 1994; Low et Merida, 1996; Bartosz, 1997; Wojtaszek, 1997; Langebartels *et al.*, 2002**). Cette flambée contribue à détruire une partie des microorganismes et entraîne toute une série de

Métabolisme énergétique

mécanismes de signalisation permettant à la plante de mettre en place des systèmes de défense.

- Signalisation oxydative

(**Foyer et Noctor, 2005a**) ont proposé de réévaluer le concept de stress oxydatif en distinguant la signalisation oxydative du stress oxydatif. En effet, la flambée oxydative induite par différents stress modifie le statut redox cellulaire. Depuis plusieurs années, la régulation redox des processus physiologiques apparaît comme étant aussi importante que la régulation par phosphorylation/déphosphorylation (**Foyer *et al.*, 2001; Arora *et al.*, 2002; Pastori et Foyer, 2002; Vranova *et al.*, 2002; Pignocchi et Foyer, 2003; Foyer et Noctor, 2005a, b; Meyer et Hell, 2005; Fedoroff, 2006; Noctor, 2006; Foyer, 2007**). Cette régulation directe par les ERO, ou indirecte par les couples redox, est le fait de l'oxydation ou de la réduction de groupements sensibles au statut redox, au niveau des protéines, et notamment les groupements sulfhydryles de la cystéine et de la méthionine (**Meyer et Hell, 2005**). Ce mécanisme de réduction/oxydation agit comme un « interrupteur » de l'activité de nombreuses enzymes intervenant notamment dans les évènements de signalisation (protéines kinases) et dans le contrôle du cycle cellulaire.

Les ERO et le statut redox participent ainsi, par l'intermédiaire de cette régulation redox ou par d'autres mécanismes, à l'activation de nombreuses cascades de transduction du signal (protéines kinases, signalisation calcique). Le statut redox est considéré comme un véritable senseur de l'état physiologique de la cellule, toute flambée oxydative étant la conséquence indirecte d'un stress. La redondance des systèmes de production d'ERO et des systèmes de détoxication permet une régulation fine du signal transmis et une réponse appropriée de la cellule. Ainsi, même s'il existe des mécanismes de réponses communs, il apparaît que les voies de signalisation ne sont pas régulées de la même façon en fonction du type de stress. En effet, les cellules ne répondent pas d'une façon identique à un stress biotique ou abiotique. Les mécanismes de régulation différentiels sont toutefois très complexes, et il existe de nombreuses interconnexions entre les différentes voies de signalisation. (**Pourrut, 2008**)

- **Le stress oxydatif**

Le stress oxydatif (ou oxydant) a été défini par Sies (1997) comme une perturbation de la balance entre les prooxydants et les antioxydants, en faveur des premiers, conduisant à des dommages potentiels (Figure 39). Le stress oxydatif est la conséquence de :

- la diminution du niveau des antioxydants et/ou
- l'augmentation de la production d'ERO

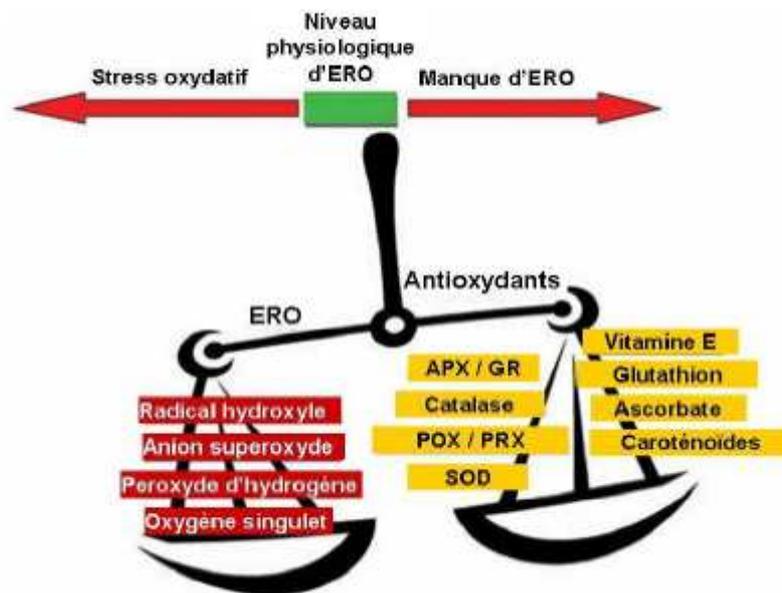


Figure 39: Schématisation de la balance entre les ERO et les antioxydants. (Pourrut, 2008)

- **Conséquences**

Lorsque la quantité d'ERO générée dépasse les capacités antioxydantes de l'organisme, la toxicité des ERO s'exprime par de nombreux aspects, et en particulier par la perturbation de nombreux processus physiologiques comme la photosynthèse (Sies, 1997;

Smirnoff, 1998; Dat *et al.*, 2000; Inze et Montagu, 2001; Arora *et al.*, 2002; Langebartels *et al.*, 2002). Cette toxicité s'explique par la réactivité des ERO, en particulier celle de l'.OH, envers les macromolécules biologiques.

- **Altérations de la structure des protéines**

Les protéines sont particulièrement sensibles à l'action des ERO. Plusieurs mécanismes directs ou indirects de modifications sont connus (Stadtman et Levine, 2000; Favier, 2003).

Les protéines les plus touchées sont celles comportant un groupement sulphydryle (-SH), comme c'est le cas pour de nombreuses enzymes et protéines de transport (Stadtman et Levine, 2000). Le peroxyde d'hydrogène, mais surtout le radical hydroxyle sont capables d'oxyder ces groupements, conduisant à l'inactivation de certaines enzymes. En particulier, la présence de radicaux hydroxyles est à l'origine de dégradations irréversibles des protéines, par la formation de groupements carbonyles sur la chaîne latérale de certains acides aminés. Ainsi, l'histidine, l'arginine, la lysine ou encore la proline sont des cibles privilégiées de ce processus d'altération oxydative (Stadtman et Levine, 2000; Wong *et al.*, 2008). De nombreux autres acides aminés sont également susceptibles d'être oxydés par les ERO (Figure 02).

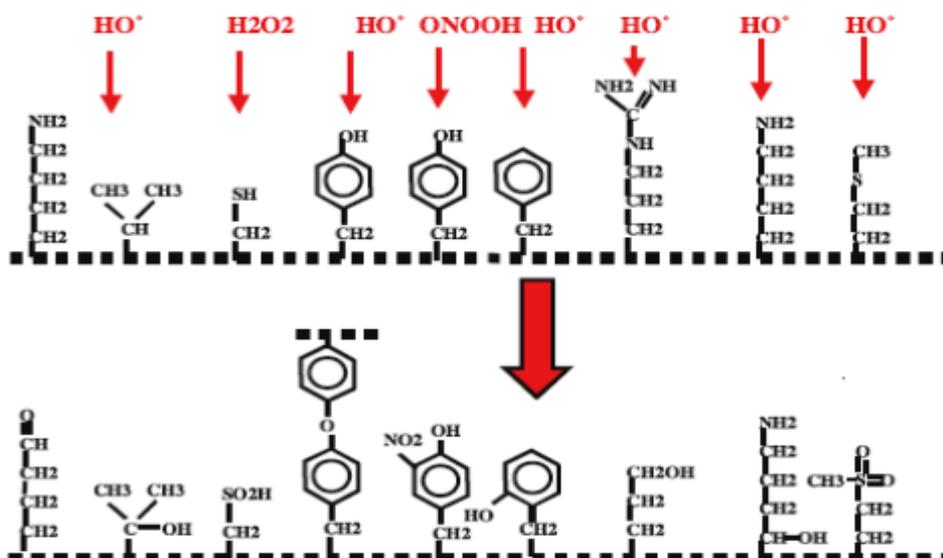


Figure 40 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des Protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

Le stress oxydatif induit des cassures, ou conduit à la formation de réticulation, avec notamment la formation de ponts bi-tyrosine (**Fraisse, 1993**). Les protéines oxydées perdent leurs propriétés biologiques, et sont beaucoup plus sensibles à l'action des protéases (**Stadtman et Levine, 2000**). L'anion superoxyde a également la capacité de réagir avec les centres Fer-Soufre de certaines protéines, entraînant le relargage de fer dans le milieu. Cette action a une double conséquence, puisqu'elle induit l'inactivation de la protéine hémique ainsi que la formation potentielle de nouveaux radicaux hydroxyles, via la réaction d'Haber-Weiss. Enfin, les ERO induisent des modifications indirectes des protéines via la formation d'adduits par des aldéhydes dérivant de la peroxydation des lipides (**Lynch et al., 2001**).

- **Production d'ERO lors des principaux processus métaboliques**

- **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**).

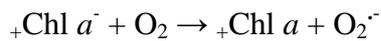
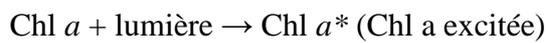
Le processus photosynthétique est à l'origine de la formation directe d' $1O_2$ et de $O_2^{\cdot-}$ et indirecte de H_2O_2 (par dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$) et d' $\cdot OH$. Il y a encore peu de temps, le photosystème I (PSI) était considéré comme la source principale des ERO chloroplastiques. 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 de $O_2^{\cdot-}$ (**Cleland et Grace, 1999; Dat et al., 2000**). Les quinones A et B du PSII seraient impliquées dans la perte d'électrons

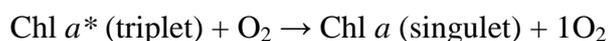
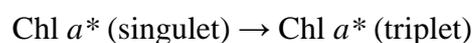
Métabolisme énergétique

conduisant à la réduction de l'O₂. 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 :



Une fois produits, les ions O₂⁻ peuvent se retrouver dans le lumen où ils se protonent pour former des HO₂[·] 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 H₂O₂ (**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'¹O₂ et non d'O₂⁻ (**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 :



- 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

Métabolisme énergétique

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 et 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 et 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.

- **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**).

Métabolisme énergétique

La réaction de transamination du glycolate, effectuée dans le peroxyosome, conduit à la formation de glyoxylate et d' H_2O_2 (Wingler *et al.*, 2000; Nyathi et Baker, 2006).

1. Objectif du travail

L'objectif de ce chapitre est d'étudier les effets du Calliofop 36EC sur le métabolisme énergétique : **la respiration cellulaire, et la photosynthèse** chez les deux plantes aquatique en question : *Elodea canadensis* et *Lemna minor* en présence de l'herbicide Calliofop 36EC

2. Résultats

Dans cette partie nous avons présenté les principaux résultats obtenus concernant les essais réalisés au laboratoire sur le métabolisme énergétique : respiration et photosynthèse chez *Elodea canadensis* et *Lemna minor* exposées au Calliofop 36EC a deux durées de traitement 3, 7, 14 et 21 jours.

Effets du Calliofop 36 EC sur le métabolisme respiratoire exprimé en (n mol/gr de PF)

2.1 Activité photosynthétique

2.1.1 *Elodea canadensis*

3jours

L'évolution du métabolisme photosynthétique des feuilles d'*Elodea canadensis* après 3 jours de traitement par la molécule herbicide Calliofop 36EC est présentée dans la figure (41) , cette figure montre qu'après 3 jours d'exposition des feuilles au xénobiotique en question on remarque une augmentation de l'activité photosynthétique dans le temps de sa

Métabolisme énergétique

mesure (de 0 à 5 minutes), et une diminution de l'intensité de l'activité de la photosynthèse comparativement au témoin .

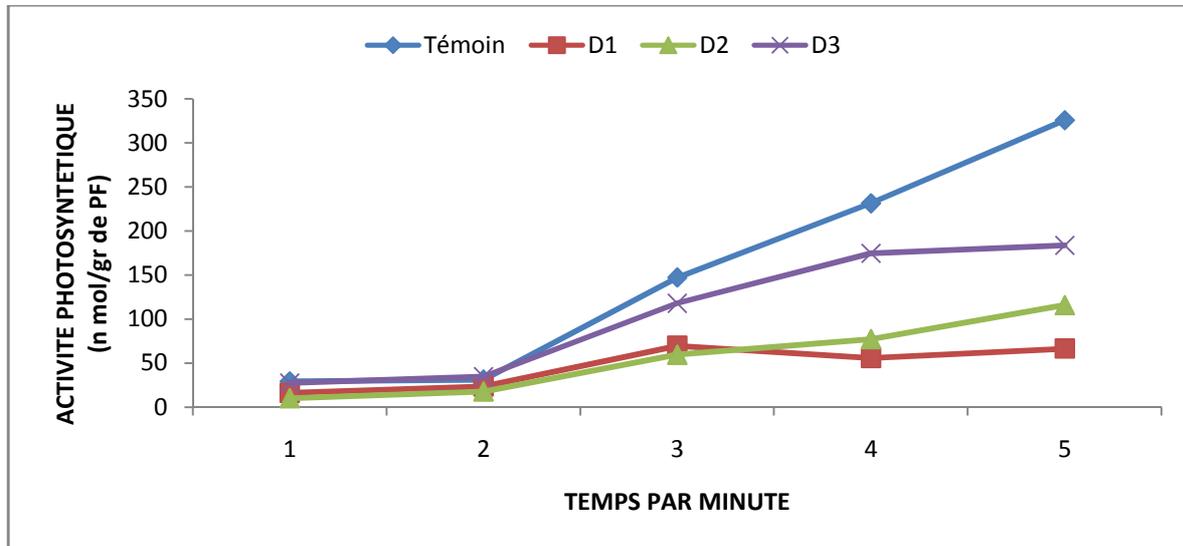


Figure 41 : Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de *Elodea Canadensis* (n mol/gr de MF) .

7jours

La figure (42), représente l'évolution du métabolisme photosynthétique des feuilles de *Elodea canadensis* après 7 jours de traitement par le Calliofop 36EC, cette figure met en évidence une perturbation du métabolisme photosynthétique des feuilles de *Elodea canadensis* suite à la contamination par l'herbicide en question, cette perturbation se traduit par une inhibition de la photosynthèse à partir des doses élevées du Calliofop 36EC, et cette perturbation est notée pendant les 5 minutes de l'évolution de l'activité photosynthétique.

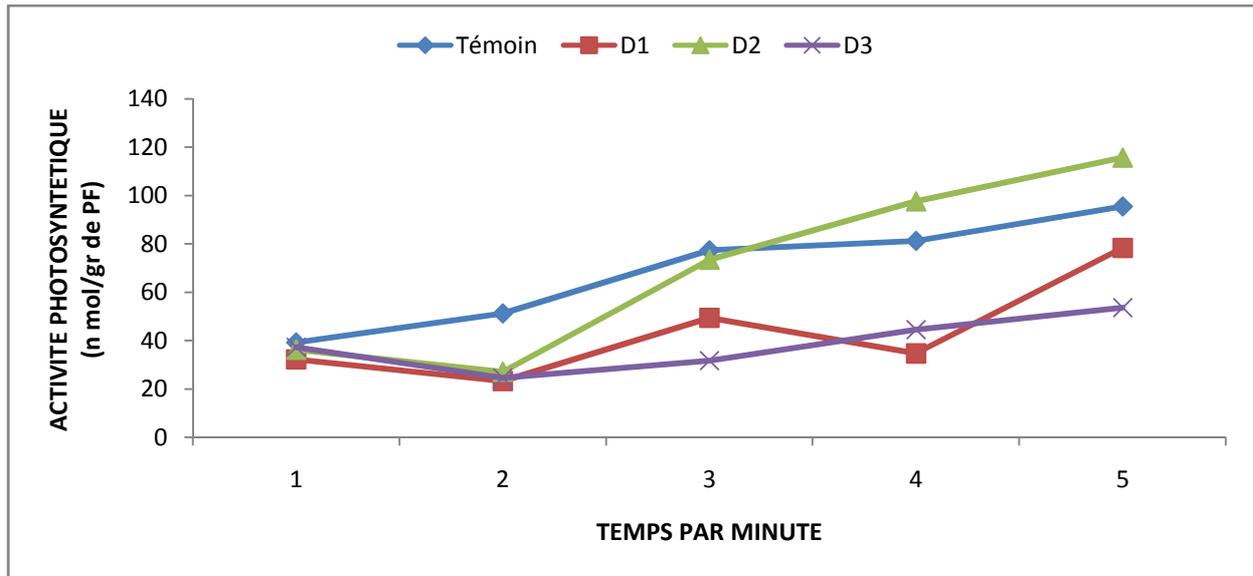


Figure 42: Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de *Elodea Canadensis* (n mol/gr de MF)

14 jours

La figure (43), illustre les effets du Calliofop 36EC sur l'évolution du métabolisme photosynthétique des feuilles d'*Elodea canadensis* après 14 jours de traitement, on remarque une forte perturbation de l'activité photosynthétique et ceci est noté dès la première dose D1 de traitement, cette perturbation est traduit par une diminution remarquable du taux de la photosynthèse des traités par apport au témoin surtout chez la D3 en contact des feuilles de *Elodea canadensis*.

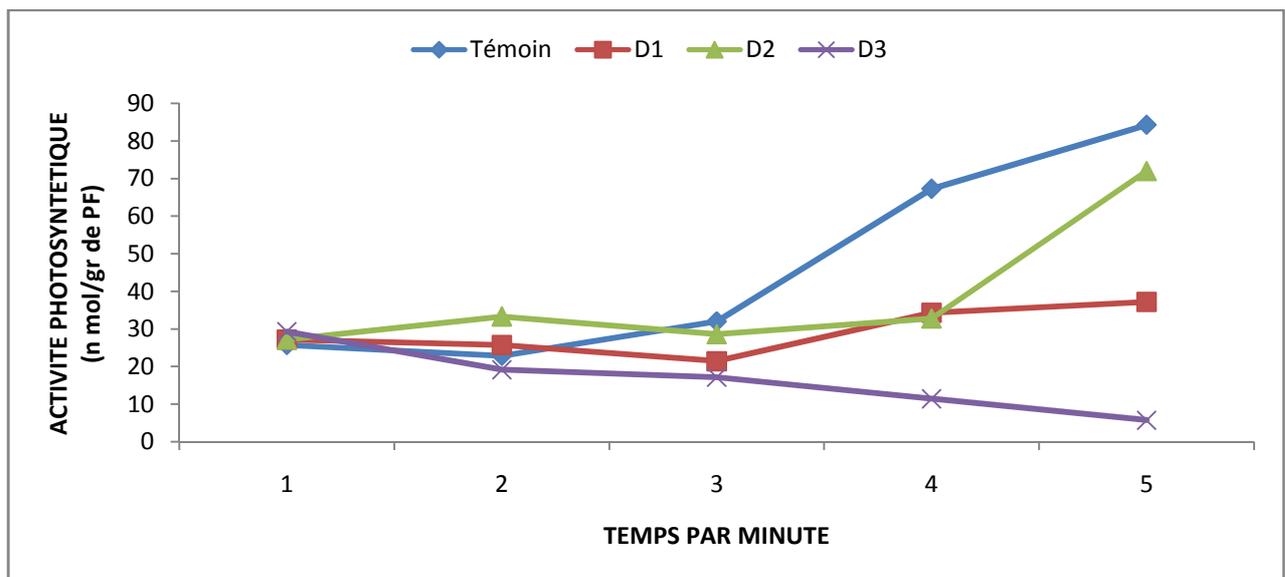


Figure 43 : Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de *Elodea Canadensis* (n mol/gr de MF)

21jours

La figure (44), met en évidence les effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de *Elodea canadensis*, après 21 jours de traitement, cette figure montre que les feuilles de la plante aquatique stressée sous l'effet de l'herbicide subit une perturbation du métabolisme photosynthétique traduit par une légère augmentation de la photosynthèse chez la première dose D1, et une diminution chez la deuxième et troisième dose (D2, D3) par rapport au témoin.

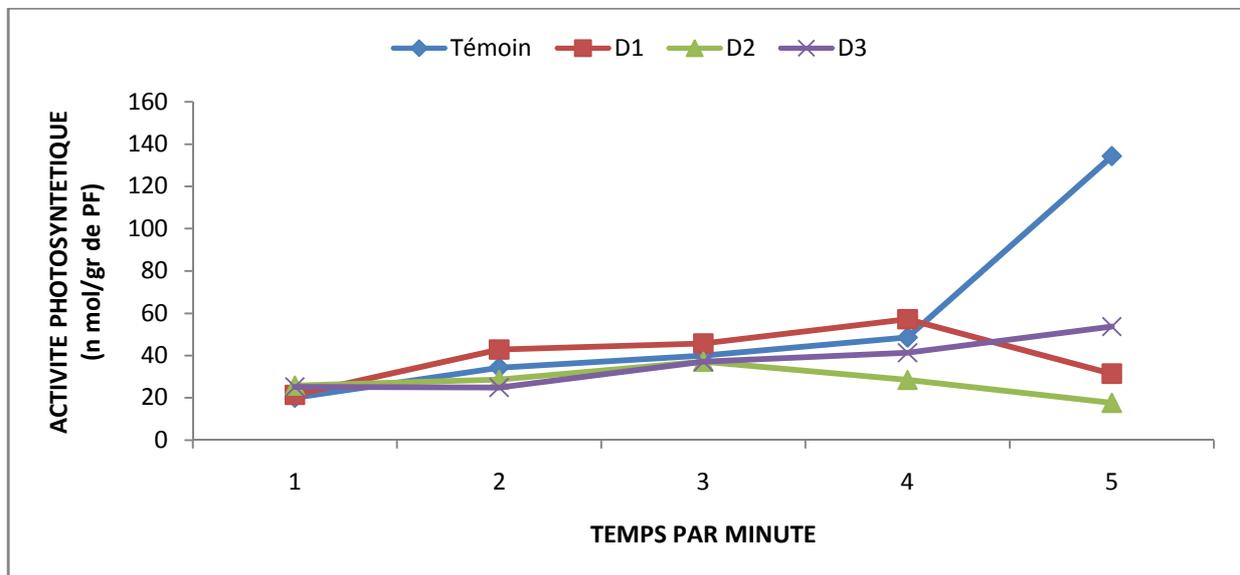


Figure 44 : Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de *Elodea Canadensis* (n mol / gr de MF)

3.1.2 *Lemna minor*

3jours

L'évolution du métabolisme photosynthétique des feuilles de *Lemna minor* après 3 jours de traitement par la molécule herbicide Calliofop 36EC est présentée dans la figure (45), cette figure montre une perturbation de l'activité photosynthétique des feuilles de la lentille d'eau, ceci est traduit par une diminution des traités par rapport au témoin concernant le taux du métabolisme photosynthétique, on note aussi une légère augmentation de la D2 comparativement aux doses au 1 et 3 ou le taux est inférieure par rapport au témoin.

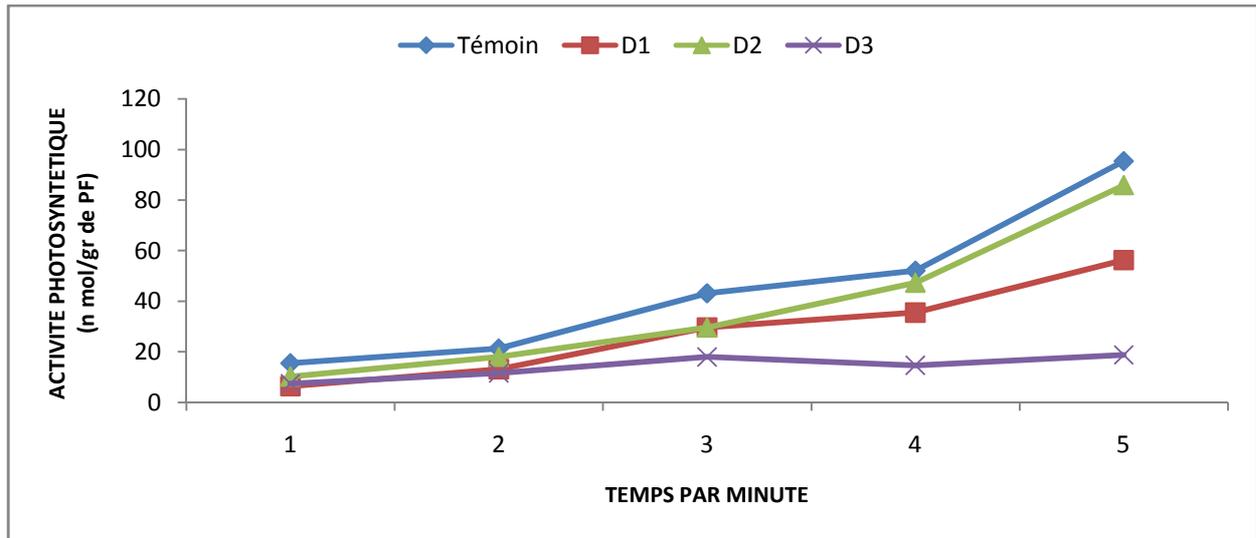


Figure 45 : Effet du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de *Lemna minor* (n mol/gr de MF)

7jours

La figure (46), montre les effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de la lentille d'eau *Lemna minor* après 7 jour de traitement, cette figure met en évidence une diminution du taux du métabolisme photosynthétique des feuilles traités par rapport au feuilles témoins, la baisse de la photosynthèse est noté dès la première dose D1 du produit, quoiqu'on note que le taux de l'activité photosynthétique est plus élevée chez la D2 par rapport à D1 et D3.

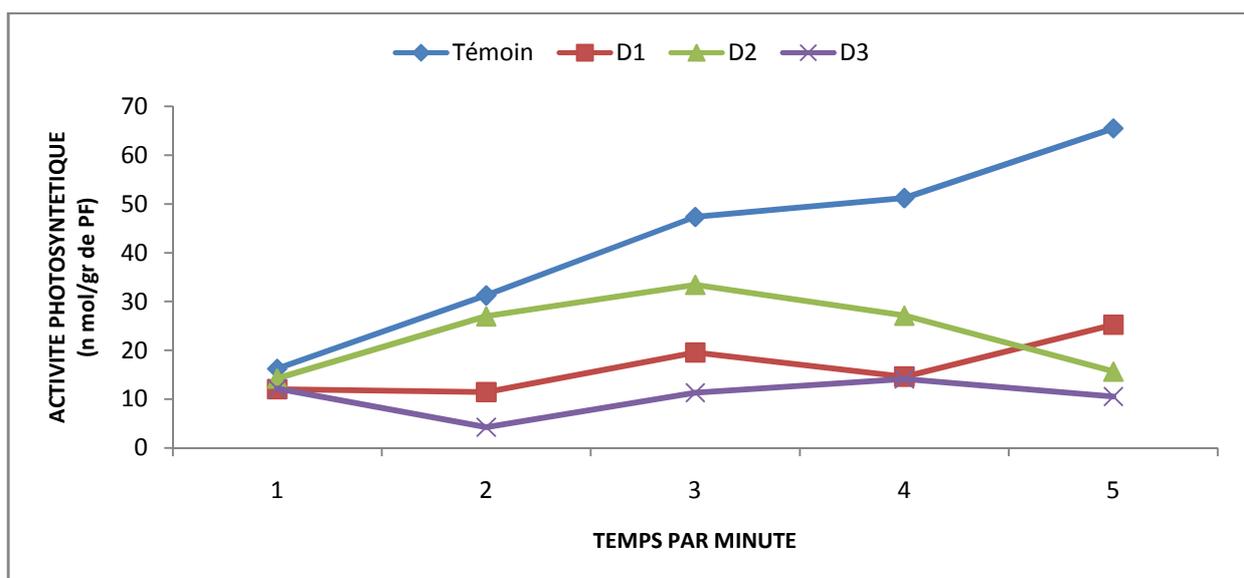


Figure 46 : Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de *Lemna minor* (n mol / gr de MF)

14jours

La figure (47), illustre les effets du Calliofop 36EC sur les feuilles de la lentille d'eau *Lemna minor*, après 14 jours d'exposition à l'herbicide, cette figure met en évidence une perturbation de la photosynthèse qui se traduit par une diminution du métabolisme photosynthétique par rapport au témoin chez les feuilles traitées par la dose D1, et une augmentation par rapport au témoin chez les feuilles traitées par les doses D2 et D3.

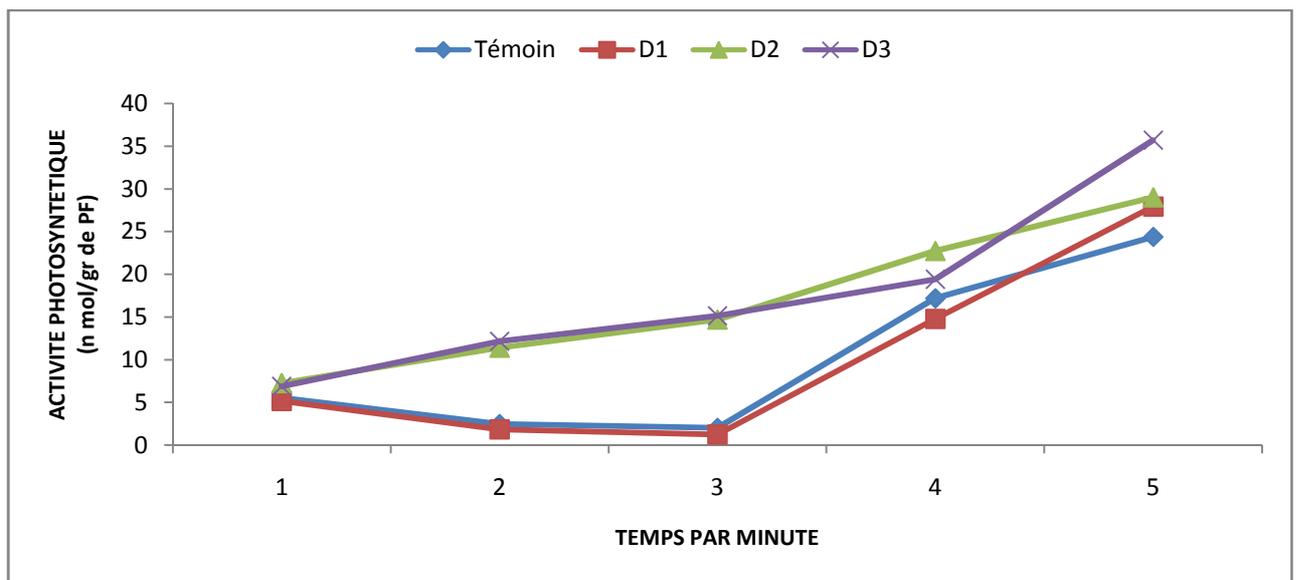


Figure 47: Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de *Lemna minor* (n mol/gr de MF)

21jours

La figure (48), montre les effets du Calliofop 36EC sur les feuilles de la lentille d'eau *Lemna minor*, après 21 jours de traitement, on remarque une augmentation du taux de la photosynthèse par rapport au témoin chez les feuilles de *Lemna minor* traitées par la dose D1, et une diminution de la photosynthèse par rapport au témoin chez les feuilles traitées par les doses D2 et D3.

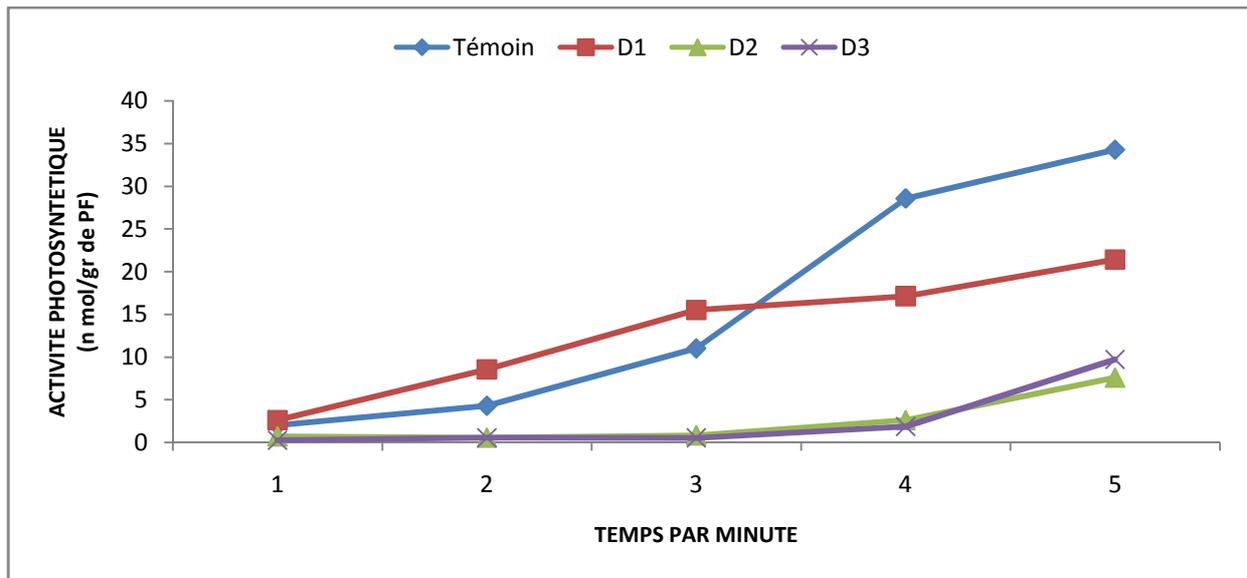


Figure 48 : Effets du Calliofop 36EC sur l'activité photosynthétique des feuilles de *Lemna minor* (n mol/gr de MF)

3.2 Activité respiratoire

3.2.1 *Elodea canadensis*

3 jours

L'évolution du métabolisme respiratoire des feuilles de la plante aquatique *Elodea canadensis* après 3 jours de traitement par la molécule herbicide Calliofop 36EC est présentée dans la figure (49), celle-ci met en évidence une baisse remarquable de la respiration chez les feuilles traitées par rapport au témoin, cette diminution du métabolisme respiratoire est dose dépendante, c'est-à-dire plus on augmente la dose du Calliofop 36EC chez les feuilles traitées et plus l'inhibition de la respiration augmente.

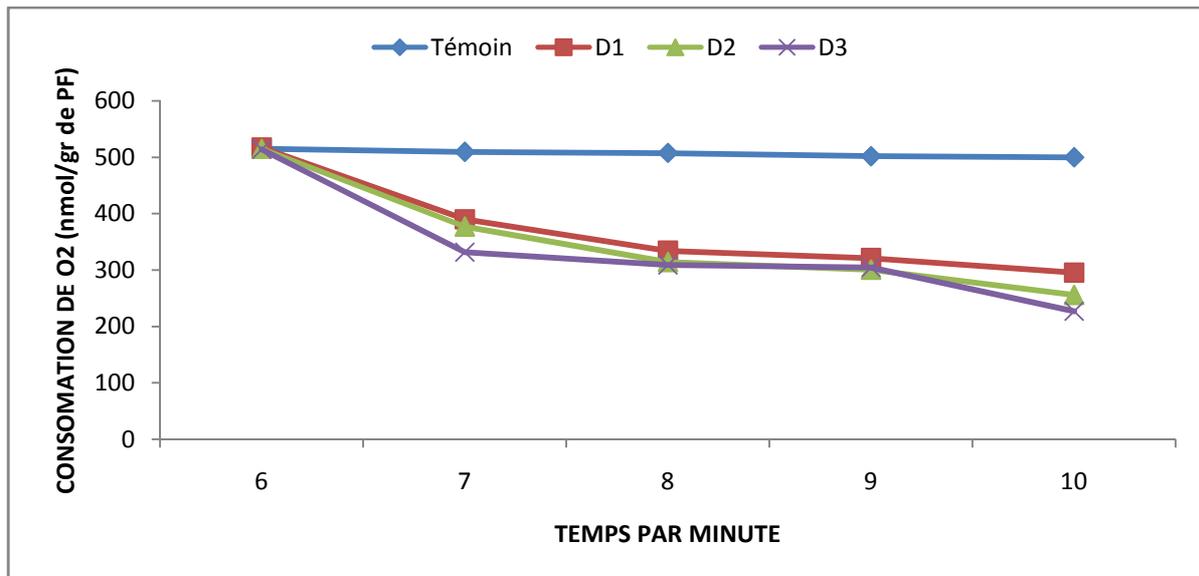


Figure 49 : Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de *Elodea Canadensis* (n mol/gr de MF)

7jours

La figure (50), montre les effets du Calliofop 36EC sur le métabolisme respiratoire des feuilles de *Elodea canadensis*, après 7 jours de traitement, cette figure met en évidence une diminution de la respiration des feuilles de Macrophyte exposée au différentes doses de l'herbicide, la diminution de la respiration est dose dépendante par rapport au feuilles témoin, chez les doses traitées D1, D2 et D3.

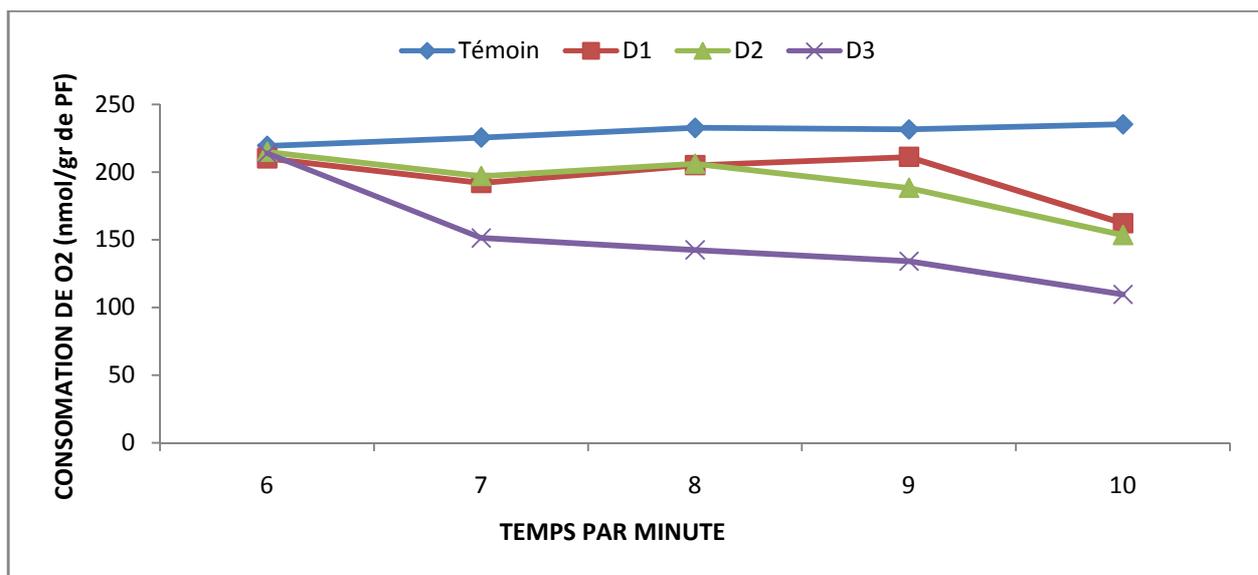


Figure 50: Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de *Elodea canadensis* (n mol/gr de MF)

14jours

La figure (51), illustre les effets du Calliofop 36EC sur le métabolisme respiratoire des feuilles de *Elodea canadensis*, après 14 jours de traitement, cette figure indique une perturbation dans la respiration des feuilles traitées par rapport au témoin, cette perturbation se traduit par une augmentation du taux du métabolisme respiratoire chez les feuilles traitées par les deux premières doses D1 et D2 par rapport au témoin, et une diminution de la respiration chez les feuilles traitées par la dose D3.

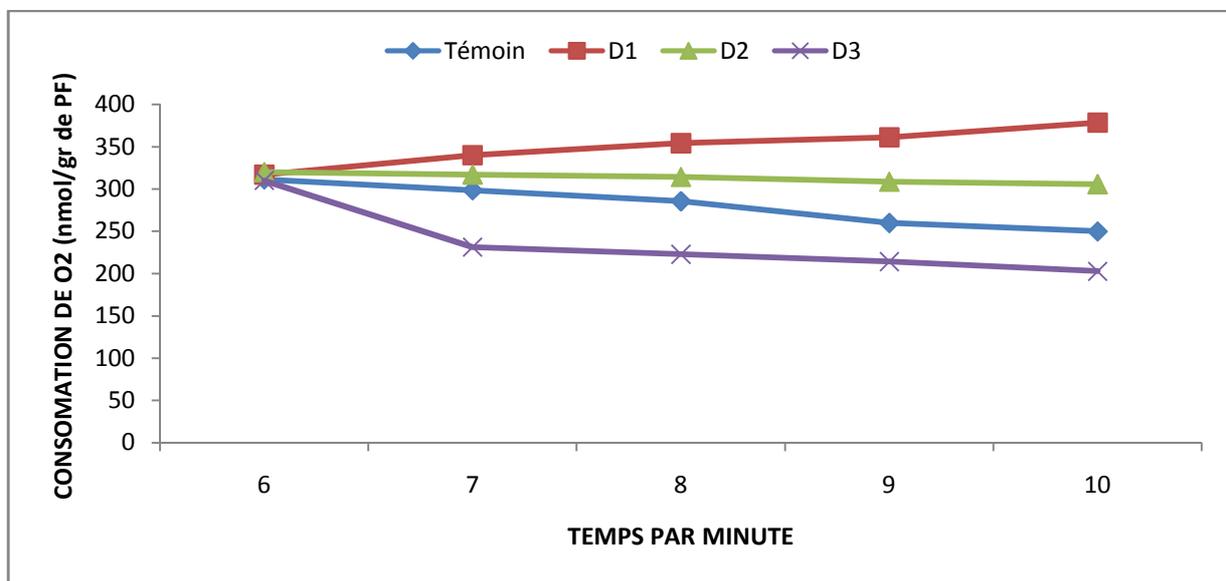


Figure 51 : Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de *Elodea canadensis* (n mol/gr de MF)

21jours

L'évolution du métabolisme respiratoire foliaire de *Elodea canadensis* après 21 jours de traitement, est indiquée dans la figure (52), cette figure met en évidence une inhibition de la respiration chez les feuilles traitées par le Calliofop 36EC par rapport au témoin, cette inhibition se traduit par une diminution dose dépendante de la respiration, sous l'effet de l'herbicide en question et ceci est visible dès la première dose D1 du Calliofop 36EC.

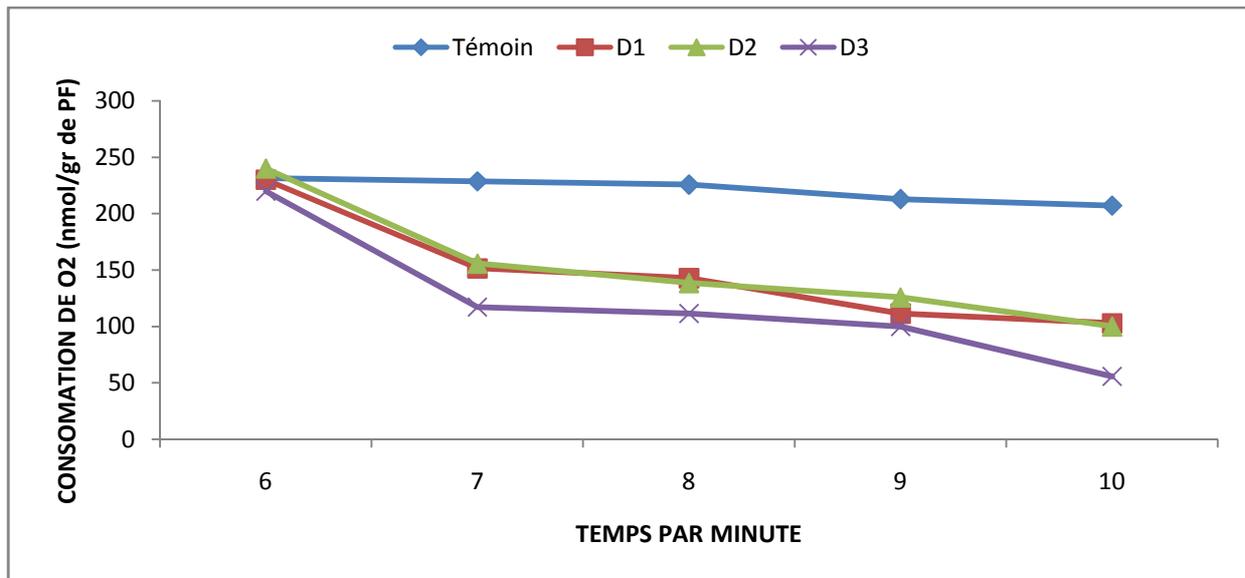


Figure 52 : Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de *Elodea canadensis* (n mol/gr de MF)

3.2.2 *Lemna minor*

3jours

La figure (53) illustre les effets du Calliofop 36EC sur le métabolisme respiratoire des feuilles de la lentille d'eau *Lemna minor* après 3 jours de traitement, on note une perturbation de la respiration des feuilles traitées par rapport au témoin, cette figure met en évidence une baisse de la consommation en O₂, suite à l'exposition au xénobiotique, la baisse de la respiration notée est remarquée en fonction des doses croissantes de l'herbicide utilisé.

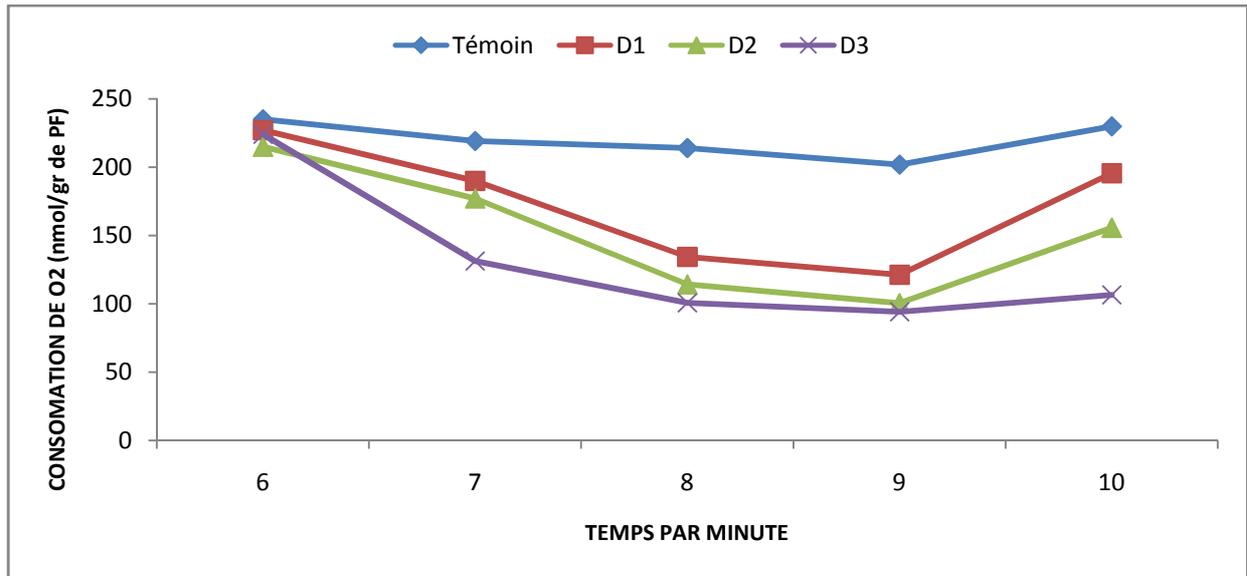


Figure 53 : Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de *Lemna minor* (n mol/gr de MF)

7jours

La figure (54), montre les effets du Calliofop 36EC sur le métabolisme respiratoire des feuilles de la lentille d'eau *Lemna minor* après 7 jours de traitement, cette figure met en évidence une perturbation du métabolisme respiratoire des feuilles traitées par rapport au feuilles témoin, cette perturbation se traduit par une diminution par rapport au témoin de la respiration des feuilles exposées à la première dose D1 du Calliofop 36EC, et une augmentation de la respiration par rapport au témoin chez les feuilles traitées avec les doses 2 et 3.

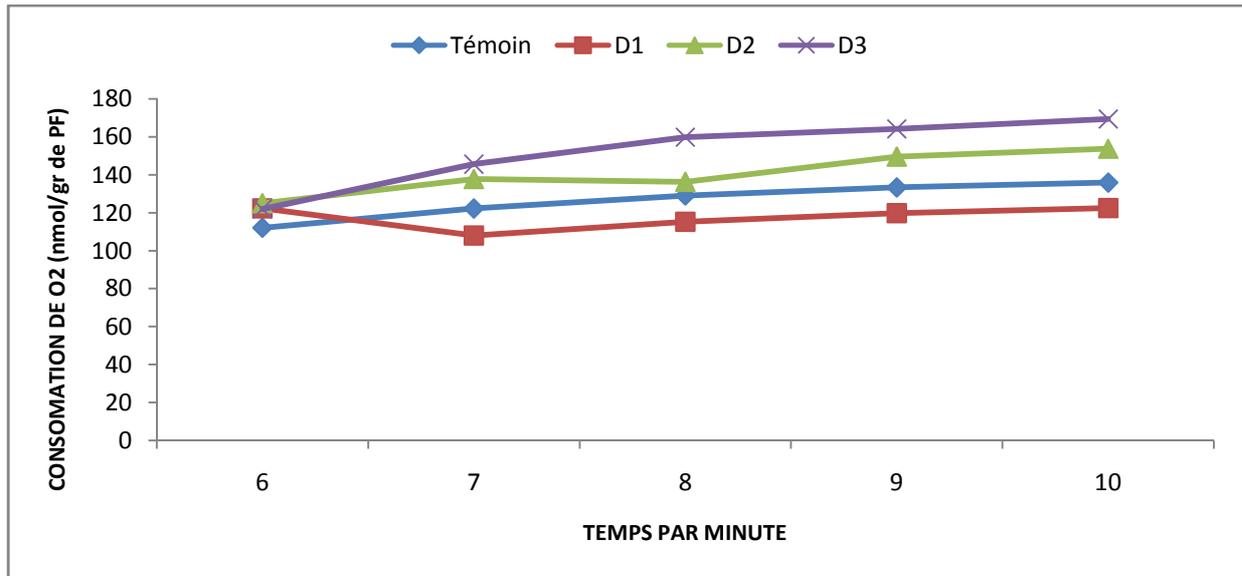


Figure 54 : Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de *Lemna minor* (n mol/gr de MF)

14jours

La figure (55), montre les effets du Calliofop 36EC sur le métabolisme respiratoire des feuilles de la lentille d'eau *Lemna minor* après 14 jours de traitement, on note une perturbation de la respiration des feuilles traitées par apport au témoin, cette perturbation de la consommation en O₂ ce traduit par une augmentation des doses D1 et D2 et une diminution de la dernière dose D3 de l'herbicide Calliofop 36EC.

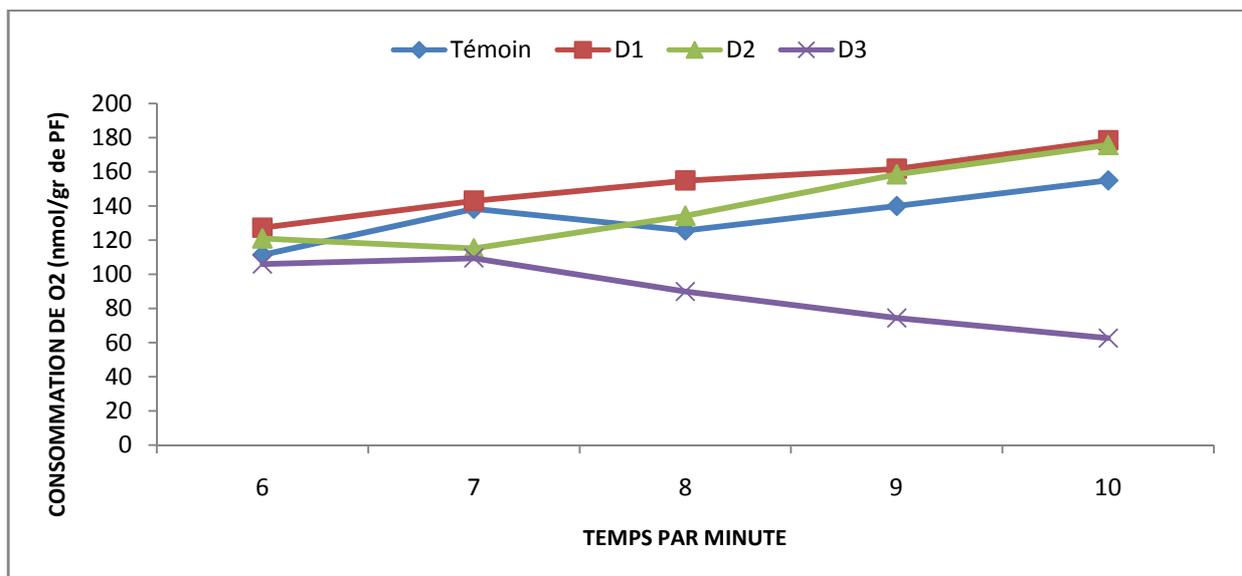


Figure 55 : Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de *Lemna minor* (n mol/gr de MF)

21jours

L'évolution du métabolisme respiratoire des feuilles de la lentille d'eau *Lemna minor* après 21 jours de traitement par le Calliofop 36EC est indiquée dans la figure 56, on remarque une inhibition de la respiration chez les feuilles traitées par rapport aux feuilles témoins, car la respiration a diminué sous l'action de l'herbicide et ceci dès la première dose D1, on note aussi une légère augmentation de la respiration chez les feuilles traitées par la D3 par rapport aux feuilles traitées par les doses D1 et D2, cependant cette augmentation reste inférieure à la consommation en O₂ enregistrée chez les feuilles témoins.

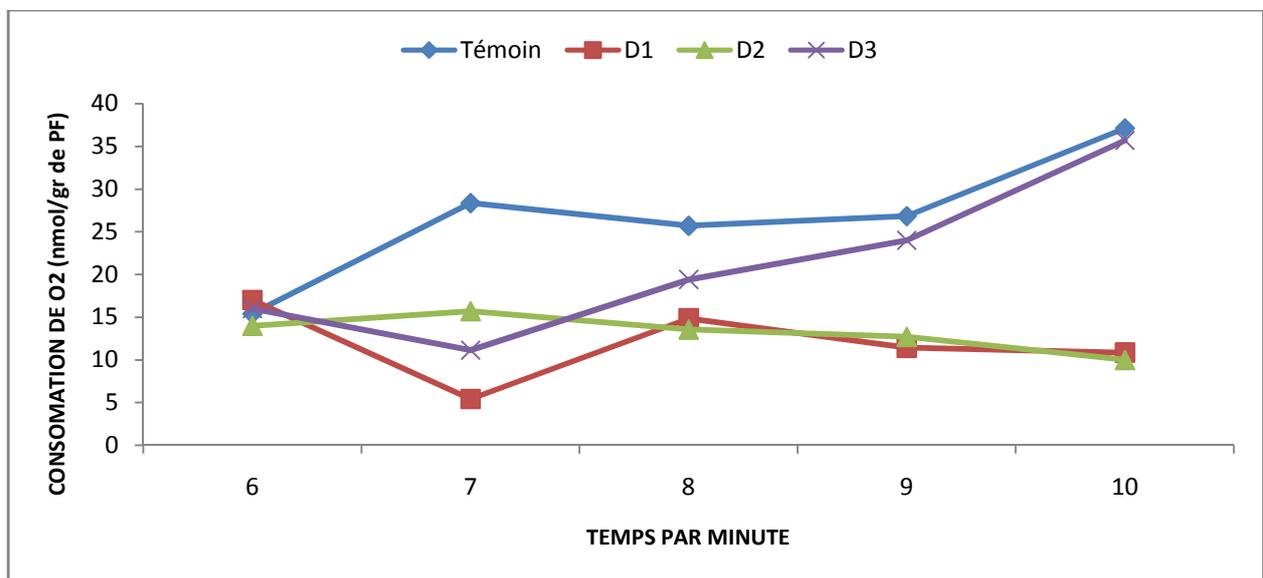


Figure 56 : Effets du Calliofop 36EC sur l'activité respiratoire des feuilles de *Lemna minor* (n mol/gr de MF)

- **Discussion**

L'ensemble des résultats obtenus dans cette partie de notre travail montre que le traitement des feuilles de *Elodea canadensis* et *Lemna minor* par l'herbicide Calliofop 36EC, perturbe fortement l'activité respiratoire. Cette inhibition serait d'une part due à la présence des ERO qui sont connus comme élément perturbateurs aussi bien du métabolisme respiratoire que de la photosynthèse (kiss *et al.*, 2003 ; kuciel et Mazurkiewicz, 2004).

Métabolisme énergétique

L'activité respiratoire est légèrement stimulée lors du traitement de *Lemna minor* avec la première concentration de 35µg. Le traitement avec les plus fortes concentrations (70 µg, 140 µg) conduit à une diminution progressive de la respiration chez les deux plantes. Ce résultat semble appuyer l'hypothèse suivante : les plantes exposées au stress métallique indiqueraient une légère augmentation de la fréquence respiratoire, comparativement aux témoins. Cependant, la consommation d'O₂ diminue sous stress métallique sévère, tout en indiquant des dommages métaboliques (Loesch et Kohl, 1999). Aussi nos résultats vont dans le même sens que ceux de Bouchlaghem *et al.*, (2011), qui explique l'inhibition de la respiration, dû aux effets de la poussière métallique, sur les mousses et les lichens par la perturbation de la phosphorylation oxydative mitochondriale. Cette perturbation serait expliquée en partie par l'interférence de certains métaux lourds dans les activités enzymatiques et respiratoires par conséquent, dans le mécanisme de phosphorylation de l'ADP en l'ATP par l'ATPase.

Les métaux lourds sont signalés pour influencer les échanges gazeux respiratoires. Nos résultats concordent aussi avec ceux de Maria *et al.*, (2009) sur la tolérance du nickel chez *Elodea canadensis*, il a été noté que l'impact de la respiration dans la quantité totale d'échange d'oxygène a été légèrement améliorée après le traitement de *Elodea* avec une concentration en Ni de l'ordre de 1 ml. Le traitement avec des concentrations plus élevées de Ni conduit à une diminution progressive du taux de respiration.

Le métabolisme photosynthétique suit des fluctuations en fonction des différentes concentrations de l'herbicide. A de faibles concentrations du Calliofop 36EC, la photosynthèse reste active mais toujours inférieure à celle du contrôle, contrairement aux fortes concentrations où elle est inhibée. Nos résultats vont dans le même sens avec ceux obtenus par Israr *et al.*, (2006).

Il est connu que les photosynthétats frais, ont une influence bien plus nette sur le métabolisme énergétique que les photosynthétats de réserve, ainsi les fluctuations observées dans notre travail pourraient s'expliquer par deux hypothèses : Soit le pesticide affecte un composé lumière-dépendant relié à la photosynthèse, soit l'un des photosynthétats frais jouerait un rôle dans la tolérance des plants au pesticide et confère ainsi à la lumière une protection relative (Israr *et al.*, 2006).

Métabolisme énergétique

Les ROS générés pourraient agir sur les organites subcellulaires tels que les mitochondries et chloroplastes en inhibant la respiration et la photosynthèse de ces mêmes systèmes. Cette inhibition serait la conséquence d'un découplage de la phosphorylation oxydative chez les mitochondries et photo peroxydation des lipides membranaires chez les chloroplastes. (Sbartai, 2008).

- **Conclusion**

La présence de l'herbicide 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, et un dérèglement de nombreuses voies métaboliques. Si la concentration en Calliofop 36EC excède le niveau de tolérance des plantes aquatiques, des perturbations fonctionnelles apparaissent au niveau de la photosynthèse.

Conclusion générale

Les pollutions diffuses d'origine agricole, dues aux produits phytosanitaires, sont souvent mises en cause dans la pollution des eaux de surface et des eaux souterraines. Certains procédés d'épuration extensive des eaux usées, utilisent des plantes aquatiques. Les rejets des eaux usées sont de plus en plus sujets à des pollutions de natures diverses, notamment les pesticides. Dans cette recherche, nous avons procédé à une évaluation comparée de la tolérance et de l'accumulation d'un herbicide Calliofop 36EC, sur deux espèces de plantes d'eau douce : la lentille d'eau *Lemna minor* et l'*Elodea Canadensis*. Ces macrophytes se distinguent par leur rôle de filtration et d'épuration hydrique, leurs capacités d'épuration leur permettent de filtrer les eaux usées, de par leur système racinaire important, possédant une grande faculté d'absorber les xénobiotiques.

Les résultats des expériences relatives à l'étude des effets du Calliofop 36EC sur les deux plantes aquatiques *Elodea canadensis* et *Lemna minor* permettent de tirer un certain nombre de conclusions.

Les résultats de notre étude concernant les paramètres biométriques, montre une diminution de la longueur moyenne des feuilles (LMF), et la longueur moyenne des tiges (LMT) et une baisse du ratio (MF/MS) chez *Elodea canadensis*, et une inhibition de la longueur moyennes des racine (LMR) accompagnée par une réduction du ratio (MF/MS) chez la lentille d'eau *Lemna minor*, ces effets toxiques observés sont dose dépendants.

En ce qui concerne l'étude des paramètres physiologiques et biochimiques, les résultats obtenus dans notre étude mettent en évidence un effet toxique du Calliofop 36EC chez les deux espèces *Lemna minor* et *Elodéa canadensis*, ces résultats prouvent bien la présence d'un stress oxydant en réponse à l'accumulation de l'herbicide au niveau des tissus des deux Macrophytes. Ce stress se traduit par une augmentation des protéines totales, accumulation des sucres totaux dans les tissus et perturbation de leurs teneurs dans le temps, une stimulation de la teneur en proline, et un déséquilibre dans les taux des chlorophylles (*a*, *b*, *a+b*) ainsi qu'une diminution des taux de chlorophylle et par moment leur augmentation chez *Elodea Canadensis*.

Conclusion générale

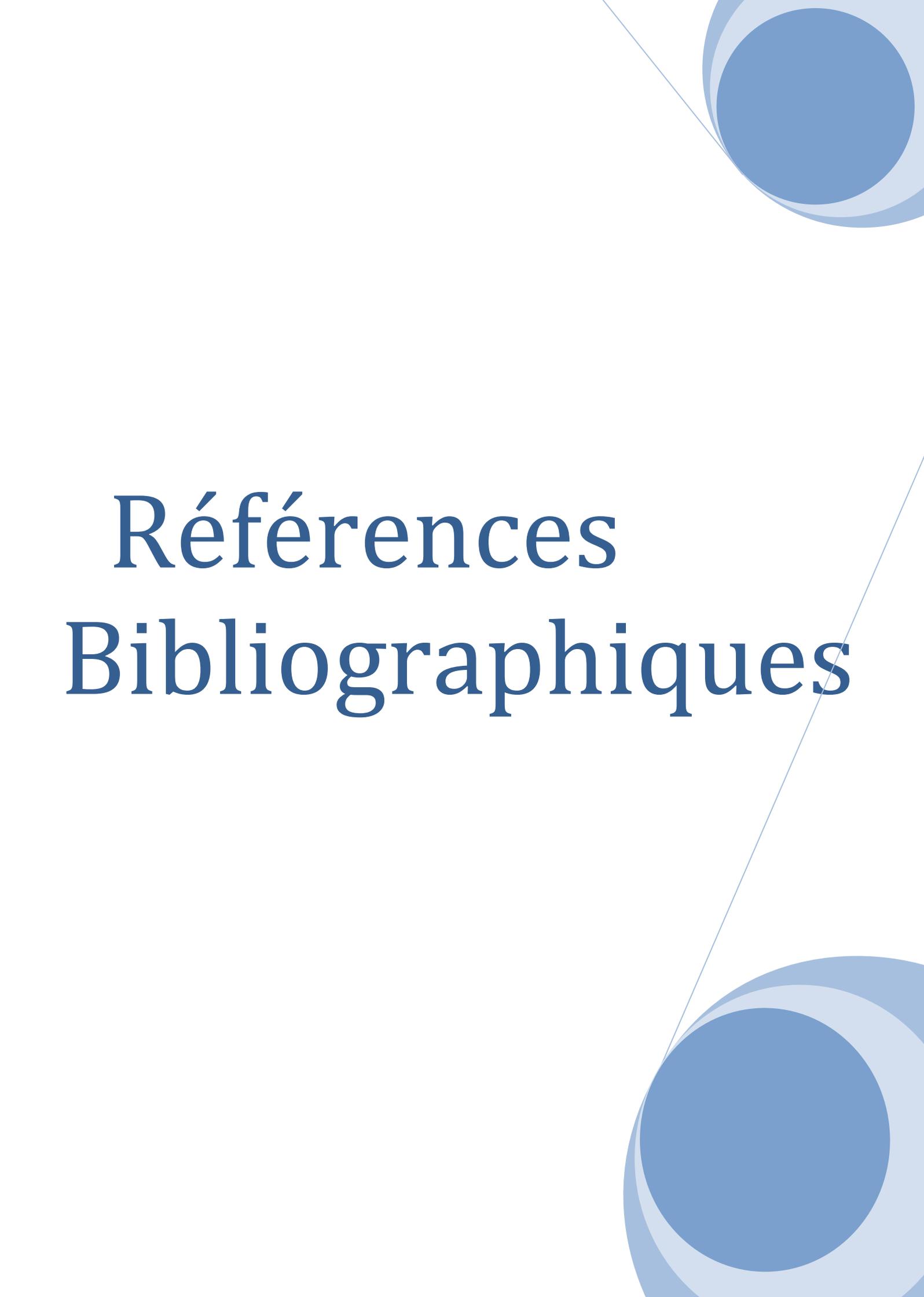
En ce qui concerne l'étude des biomarqueurs, les résultats obtenus dans cette partie met en évidence le potentiel d'accumulation des xénobiotiques dans les plantes aquatiques et la capacité de ces plantes pour survivre aux xénobiotiques dans ces macrophytes il existe des enzymes antioxydantes qui protègent les cellules du métabolisme du pesticide en question, on a noté une augmentation des activités enzymatiques APX, CAT, GPX, GST et une diminution du GSH, et une augmentation du taux de MDA et ceci est noté chez les deux plantes aquatique *Elodea canadensis* et *Lemna minor* .

Et enfin concernant les paramètres métaboliques, à savoir la respiration et la photosynthese, il apparait clairement qu'elles sont très affectées en présence du Calliofop 36EC. Cet endommagement se traduit par une perturbation entraînant une faible production d'énergie par la phosphorylation et la photo-respiration, et un dérèglement de nombreuses voies métaboliques. Si la concentration en Calliofop 36EC excède le niveau de tolérance des plantes aquatiques, des perturbations fonctionnelles apparaissent au niveau de la photosynthèse.

Perspectives

Plusieurs points importants restent à préciser.

- Il serait en effet intéressant de compléter ces résultats par une étude histologique afin d'observer les lésions engendrées par le stress oxydant.
- Un axe important pourrait faire l'objet de la cytotoxicité
- Suivre le cheminement de la molécule toxique à l'échelle cellulaire et donc localiser les ROS mitochondriaux, cytoplasmiques...
- Identifier les paramètres physico chimiques des eaux purifiées par les macrophytes.



Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- **Kadi .A., 1997.** La gestion de l'eau en Algérie. *Hydrological Sciences-Journal-des Sciences Hydrologiques*, 42(2) April 1997
- **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.
- **Ae-llgren, Gunnel, Lundstedt, Lisa, Brett, Michael, Forsberg, Curt., 1990.** Lipid composition and food quality of some freshwater phytoplankton for cladoceran zooplankters. *Journal of plankton esearch*. L2: 809-8 L8.
- **AFNOR (Association Française de Normalisation), Essais Ecotoxicologiques ., 1996.** Détermination de l'inhibition de croissance de *Lemna minor*, norme XP T 90-337, Normalisation Française, AFNOR, Paris, 2, 437-446
- **Ait Haddou R., Hermouche M., 2002.** Etude de l'effet des boues résiduaires sur la production de la pomme de terre en comparaison avec le fumier de ferme et la litière de volaille. *INRAA* 16:51-58.
- **Alia, KVSK., P. Prasad, S. Pardha., 1995.** Effect of zinc on free radicals and proline in brassica and cajanus. *Phytochemistry*, 39(1) : 45-47.
- **Alili, D., 1993.** Caractéristiques pluviométriques de l'année hydrologique 1992-93. ANRH. Alger.
- **Almeras E, S Stolz, S Vollenweider, P Reymond, L Mene-Saffrane et EE Farmer ., 2003.** "Reactive electrophile species activate defense gene expression in *Arabidopsis*." *The Plant Journal* 34(2): 205-216.
- **Alscher RG, N Erturk et LS Heath., 2002.** "Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants." *Journal of Experimental Botany* 53(372): 1331-1341.
- **Anrh ., 1993.** *Plan de développement 2010*. Alger
- **Apel K et H Hirt ., 2004.** "Reactive oxygen species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction." *Annual Review of Plant Biology* 55(1): 373-399.

Références Bibliographiques

- **Apha., 1992.** Am. Water Works Assoc. (AWWA). et Water Environment Federation. (WEF) (1992). Standard methods for the examination of water and wastewater. 18e éd., APHA, Washington, D.C.
- **Arnon D.I., 1949.** Cooper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxylase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-25.
- **Arora A, R Sairam and G Srivastava ., 2002 .** "Oxidative stress and antioxidative system in plants." *Current Science* 82(10): 1227-1238.
- **Arysta LifeScience ., 2006 .** Calliofop 36EC , pp 1-4
- **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., 2006.** "Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts and Their Functions." *Plant Physiology* 141(2): 391-396.
- **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.
- **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.
- **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.
- **Bartholomew D.M., Dyk D.E., Lau S.M.C., O'Keefe D.P., Rea P.A., Viitanen P.V ., 2002-** Alternate energy-dependent pathways for the vacuolar uptake of glucose and glutathione conjugates. *Plant Physiology*, 130, 1562-1572.
- **Bartosz. G., 1997.** "Oxidative stress in plants." *Acta Physiologiae Plantarum* 19(1): 47-64.
- **Bellinger Y., Bensaoud A., Larher F., 1991.** Physiological significance of proline accumulation, a trait of use to breeding for tress tolerance. *Colloque Physiology-*

Références Bibliographiques

- Breeding of winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments, Montpellier (France). Ed. Les colloques .55. Inra. Paris.
- **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.
 - **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 phisiol. Biochimie*. 28 : 113-124.
 - **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 MA, WD Fleming, DB Llewellyn, R Priefer, X Yang, A Sabatino and GL Plourde, 1999.** "Biochemical Characterization of the Suberization-Associated Anionic Peroxidase of Potato." *Plant Physiology* 121(1): 135-146.
 - **Binet, P., 1989.** Métabolisme et adaptation des végétaux supérieurs aux contraintes hydriques, thermiques et salines.*Bull.Ecol.T20(1):41-49*
 - **Blechert S, W Brodschelm, S Holder, L Kammerer, TM Kutchan, MJ Mueller, Z Xia and MH Zenk ., 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-oxylipins in plant defense." *Trends in Plant Science* 7(7): 315-322.
 - **Blokhina O, E Virolainen and KV Fagerstedt ., 2003.** "Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review." *Annals of Botany* 91(2): 179-194.
 - **Bolwell GP et P Wojtaszek ., 1997.** "Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence - a broad perspective." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 51(6): 347-366.
 - **Bouchelaghem S. Djebar Berrebbah H. Djebar M.R, 2011.** 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

Références Bibliographiques

- **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.
- **Boveris A and B Chance ., 1973.** "The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen." *Biochemical Journal* 134(3): 707-716.
- **Bowler C, W Van Camp, M Van Montagu and D Inze., 1994.** "Superoxide Dismutase in Plants." *Critical Reviews in Plant Sciences* 13(3): 199 - 199.
- **Bowles D., Lim E., Poppenberger B., Vaistij F.E., 2006-** Glycosyltransferases of lipophilic small molecules. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 567-597.
- **Bradford M ., 1976 .** Arapid and sensitive methods for the qualification of microgram quantities of protien utilizing the principale of protien-dye bindind. *Analitical Biochemistry.*, 72 : 248-254.
- **Brash AR ., 1999.** "Lipoxygenases: Occurrence, Functions, Catalysis, and Acquisition of Substrate." *J. Biol. Chem.* 274(34): 23679-23682.
- **Brazier M., Cole D.J., Edwards R., 2002-** O-Glucosyltransferase activities toward phenolic natural products and xenobiotics in wheat and herbicide-resistant and herbicidesusceptible black-grass (*Alopecurus myosuroides*). *Phytochemistry*, 59, 149-156.
- **Britton, N.L., and H.A. Brown., 1970 .**An illustrated flora of the northern united states and Canada, volumes 1,2. Dover Publications, Inc., New York, NY. Vol. 1-680 pp, Vol. 2-735 pp, Vol. 3-637 pp.
- **Brown A.C., 2001-** Resistance to ACCase-inhibiting herbicides in UK populations of *Alopecurus myosuroides* (black grass). Thesis.
- **Burnet M.W.M., Loveys B.R., Holtum J.A.M., Powles S.B., 1993-** Increased detoxification is a mechanism of simazine resistance in *Lolium rigidum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 46, 207-218.
- **Cai X, Liu W, Jin M, Lin K., 2007.** Relation of diclofop-methyl toxicity and degradation in algae cultures. *Environ Toxicol Chem* 26, 970-975.
- **Cairns, J., IR., 1983.** Are single species toxicity tests alone adequate for estimating environmental hazard? *Hydrobiologia* 100: 47-57.

Références Bibliographiques

- **Cakmak et Horst, WJ., 1991:** Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidases activities in root tips of soybean (*Glycine max*), *physiology plant* 83, 463-468page
- **Campalans A., Messeguer 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
- **Campos VM, Merino I, Casado R, Pacios LF, Gómez L, 2008.** Review. Phytoremediation of organic pollutants. *Span J Agric Res* 6, 38-47.
- **Carrier. H ,2009 .** L'emploi des produits phytosanitaires par les agriculteurs le subtil dosage : efficacité, protection, environnement. Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université HENRI POINCARÉ - NANCY I.
- **Cedergreen, Nrna, Strelbig, Jens, C, 2005.** The toxicity of herbicides to non-target aquatic plants and algae: assessment of predictive factors and hazard. *Pest Management Science.* 61: 1152-1160.
- **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.
- **Chandra P, Kulshreshtha K., 2004.** Chromium accumulation and toxicity in aquatic vascular plants. *Bot Rev* 70, 313-327.
- **Chaudhry Q, Schröder P, Werck-Reichhart D, Grajek W, Marecik R., 2002.** Prospects and limitations of Phytoremediation for the removal of persistent pesticides in the environment. *Environ Sci Pollut R* 9, 4-7.
- **Chehab EW, JV Perea, B Gopalan, S Theg and K Dehesh ., 2007.** "Oxylipin Pathway in Rice and *Arabidopsis*." *Journal of Integrative Plant Biology* 49: 43-51.
- **Chen Z and DR Gallie ., 2004.** "The Ascorbic Acid Redox State Controls Guard Cell Signaling and Stomatal Movement." *Plant Cell* 16(5): 1143-1162.
- **Cho U-H, Seo N-H., 2005.** Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Sci* 2005;168:113-20
- **Cleland RE and SC Grace., 1999.** "Voltammetric detection of superoxide production by photosystem II." *FEBS Letters* 457(3): 348-352.
- **Clemens S., 2006a.** Evolution and function of phytochelatin synthases." *Journal of Plant Physiology* 163(3): 319-332.

Références Bibliographiques

- **Clemens S., 2006b.** Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88(11): 1707-1719.
- **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., Vangrosveld, J., 1999.** Physiological responses to heavy metals in higher plants: defence against oxidative stress. *Verlag Z. Naturforsch.* 54, 730–734.
- **Colas R., 1977** .La pollution des eaux, coll. « Que dais je ? » P U F, Paris 4eme édition.
- **Cona .A, G. Rea, R. Angelini, R. Federico, P. Tavladoraki ., 2006.** Functions of amine oxidases in plant development and defense, *Trends Plant Sci.* 11. 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.
- **Couderchet, M., Eullafroy, P., Vernet, G., 2000, *Produits phytosanitaires : analyse, résidus, métabolites, éco toxicologie, modes d'action, transferts*, Publications du laboratoire d'Eco-Toxicologie, 444pp**
- **Creelman RA and R Mulpuri , 2002.** "The Oxylipin Pathway in *Arabidopsis*." The *Arabidopsis* Book.
- **Cummins I., Edwards R., 2004-** Purification and cloning of an esterase from the weed blackgrass (*Alopecurus myosuroides*), which bioactivates aryloxyphenoxypropionate herbicides. *Plant Journal*, 39, 894-904.
- **Cunningham SD, Anderson TA, Schwab P, Hsu FC, 1996.** Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Adv Agron* 56, 55-114.
- **D'agaro E., Renai B. & Gherardi F., 2004.** Evaluation of the American waterweed (*Elodea canadensis* Michx.) as supplemental food for the noble crayfish, *Astacus astacus* bull. *Fr. Pêche Piscic.* 372-373: 439-445.
- **Dagnelie, P., 1999.** Statistiques théoriques et appliquées.Tome2 : références statistiques à une et à deux dimensions. Bruxelles.Univ De boeck et Larcier, 659p.

Références Bibliographiques

- **Dat J, S Vandenabeele, E Vranová, M Van Montagu, D Inzé and F Van Breusegem , 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 Correira 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.
- **De Carvalho RF, Bromilow RH, Greenwood R, 2007.** Uptake of pesticides from water by curly waterweed *Lagarosiphon major* and lesser duckweed *Lemna minor*. Pest Manag Sci 63, 789-797.
- **Dec, A., 1997.** Analysis of soil bound residues of C13 – labelled fungicide cyprodinil by NMR spectroscopy. Environ. Sci. techno. 3. pp. 1128 – 1135.
- **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
- **Delaunay, A. J., and Verma , D .P .S, 1993.** Proline Biosynthesis and osmoregulation in plants. Plant J.4 :215-223.
- **Demidchik V, SN Shabala, KB Coutts, MA Tester and JM Davies , 2003.** "Free oxygen radicals regulate plasma membrane Ca²⁺- and K⁺-permeable channels in plant root cells." Journal of Cell Sciences 116(1): 81-88.
- **Depledge, M.H., Rainbow, P.S., 1990.** Models of regulation and accumulation of trace metals in marine invertebrates. Comp. Biochem. Physiol., C 97, 1-7.
- **Dewez D., Didur O., Vincent-Heroux J., Popovic R., 2007.** Validation of photosynthetic- fluorescence parameters as biomarkers or isoproturon toxic effect on alga *scenedesmus obliquus*. Department of Chemistry, Environmental Toxicology Research Center. TOXEN, 2101, Montreal, Quebec, Canada.
- **Dezert, B, 1976.** L'utilisation des eaux continentales dans les pays en voie de développement. I.G.
- **Dhir B, Sharmila P, Saradhi P, 2009.** Potential of aquatic macrophytes for removing contaminants from the environment. Crit Rev Env Sci Tec 39, 754-781.
- **Dietz K-J, 2007.** The Dual Function of Plant Peroxiredoxins in Antioxidant Defence and Redox Signaling. Peroxiredoxin Systems: 267-294.

Références Bibliographiques

- **Dietz K-J, S Jacob, M-L Oelze, M Laxa, V Tognetti, SMN de Miranda, M Baier and I Finkemeier , 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.
- **Dixon D.P., Mc Ewen A.G., Laphorn A.J. et Edwards R., 2003.** Forced evolution of herbicide detoxifying glutathione transferase. *The journal of biological chemistry,* 278, (26) : 23930-23935
- **Djebali;W., Cheraibi, W .,Ghorbel, M .H., 2002.** Croissance, activité péroxydasique et modification ultrastructurales induites par le cadmium dans la racine de tomate .laboratoire se physiologie végétale .Faculté des sciences de Tunis,Campus universitaire,1060,Tunisie.©2002 CNRC Canada.
- **Djebar, M.R. et Djebar, H, 2000.** Bioénergétique : mitochondries végétales.Synthèse, Publication de l'Université Annaba - Algérie, pp. 23-25.
- **Djekoun A., Planchon C., 1991.** Tolerance to leaf water potential in soybean genotypes. *Euphytica.* 55: 247 - 253.
- **Dreier W. & Goring M., 1974.** De ein flus hoher salzkonzentrationen auf verschidene physiologische parameter von maiswurzeln wiss. Z. der HU. Berlin Nath. Naturwiss R., 23: 641- 644.
- **Eckenfelder. WW ., 1982 .** Gestion des eaux usées urbaines et industrielles, technique et documentation Technologie des eaux résiduaires. Edition paris
- **Edreva. A, 2005.** "Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach." *Agriculture, Ecosystems and Environment* 106(2-3): 119-133.
- **Edwards R., Dixon D.P., Walbot V., 2000-** Plant glutathione S-transferases: enzymes with multiple functions in sickness and in health. *Trends in Plant Science,* 5, 193-198.
- **Eerd L.L., Hoagland R.E., Zablotowicz R.M., Hall J.C., 2003-** Pesticide metabolism in plants and microorganisms. *Weed Science,* 51, 472-495.
- **El _zbieta Kielak , Cezary Sempruch , Halina Mioduszevska , Jozef Klocek , Bogumił Leszczyn´ ski., 2011.** Phytotoxicity of Roundup Ultra 360 SL in aquatic ecosystems: Biochemical evaluation with duckweed (*Lemna minor* L.) as a model

Références Bibliographiques

plant . Contents lists available at ScienceDirect . Pestic. Biochem. Physiol. (2011), doi:10.1016/j.pestbp.2011.01.002.

- **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.
- **Erhard Cassegrain, A. & Margat, J. ,1979.** Introduction à l'économie générale de l'eau. BRGM, Orléans, France.
- **F.Berne, J.Cordonnier., 1995.** Industrial water treatment, Edition Technip Paris.
- **Fairchild, J., F., Ruessler, D., S., Haverland, P., S., Carlson, A., R. 1997.** Comparative Sensitivity of *Setaria capricornutum* and *Lemna minor* to Sixteen Herbicides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology.* 32: 353-357.
- **Farago, M.E., and Mullen, W.A, 1979.** Plants which accumulate metals. Part IV. A possible copper-proline complex from the roots of *Armeria maritima*. *Inorg. Chim. Acta* 32, L93–L94.
- **Farmer EE, E Almeras and V Krishnamurthy, 2003.** "Jasmonates and related oxylipins in plant responses to pathogenesis and herbivory." *Current Opinion in Plant Biology* 6(4): 372-378.
- **Favier . A, 2003.** "Le stress oxydant." *L'Actualité chimique* Nov-déc: 108-115.
- **Fedoroff N, 2006.** "Redox Regulatory Mechanisms in Cellular Stress Responses." *Annals of Botany* 98(2): 289-300.
- **Fnrchild, J., F., LA Pofnt T., W., Schwartz, T., R, 1994.** Effects of an herbicide and insecticide mixture in aquatic organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology.* 27: 527: 533.
- **Fonne-Pfister R., Gaudin J., Kreuz K., Ramsteiner K., Ebert E., 1990.** Hydroxylation of primisulfuron by an inducible cytochrome P450-dependent monooxygenase system from maize. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 37, 165-173.
- **Fonne-Pfister R., Kreuz K., 1990.** Ring-methyl hydroxylation of chlortoluron by an inclusive cytochrome P450-dependent enzyme from maize. *Phytochemistry*, 29, 2793-2796.
- **Forthoffer N., Helvig C., Dillon N., Benveniste I., Zimmerlin A., Tardif F., Salaun J.P., 2001.** Induction and inactivation of a cytochrome P-450 conferring herbicide resistance in wheat seedlings. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 26, 9-16.

Références Bibliographiques

- **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., Noctor G., 2003.** Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum* 119: 355-364.
- **Foyer CH et G Noctor ., 2000.** "Tansley Review No. 112. Oxygen processing in photosynthesis regulation and signalling." *New Phytologist* 146(3): 359-388.
- **Foyer CH et G Noctor , 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 CH et G Noctor ., 2005b .** "Redox Homeostasis and Antioxidant Signaling: A Metabolic Interface between Stress Perception and Physiological Responses." *Plant Cell* 17(7): 1866- 1875.
- **Foyer CH, FL Theodoulou and S Delrot ., 2001.** "The functions of inter- and intracellular glutathione transport systems in plants." *Trends in Plant Science* 6(10): 486-492.
- **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: 155 pp
- **Fritioff A, Greger M., 2007.** Fate of cadmium in *Elodea canadensis*. *Chemosphere* 67, 365-375.
- **Gachon C.M.M., Langlois-Meurinne M., Saindrenan P., 2005-** Plant secondary metabolism glycosyltransferases: the emerging functional analysis. *Trends in Plant Science*, 10, 542-549.
- **Gaillard C., Dufaud A., Tommasini R., Kreuz K., Amrhein N., Martinoia E., 1994.** A herbicide antidote (safener) induces the activity of both the herbicide detoxifying enzyme and of a vacuolar transporter for the detoxified herbicide. *FEBS Letters*, 352, 219-221.
- **Gao J, Garrison AW, Hoehamer C, Mazur CS, Wolfe NL, 2000.** Uptake and phytotransformation of organophosphorus pesticides by axenically cultivated aquatic plants. *J Agr Food Chem* 48, 6114-6120.

Références Bibliographiques

- **Gardés-Albert M., Bonnefont – Rousselot D., Abedinzadeh Z. et Jore D., 2003.** Espèces réactives de l'oxygène. L'actualité chimique, pp.91-96.
- **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.
- **Gérard Gros Claude., 1999.** L'eau, LAVOISIERR Paris.
- **Gerhardt KE, Huang XD, Glick BR, Greenberg BM, 2009.** Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. *Plant Sci* 176, 20-30.
- **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.
- **Gill, S.S., Tuteja, N., 2010.** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48, 909–930.
- **Godfrey, R. K. and J. W. Wooten., 1979.** Aquatic and wetland plants of the southeastern United States: monocotyledons. University of Georgia Press, Athens. 712 pp
- **Goyal .M, Asthir .B., 2010.** Polyamine catabolism influences antioxidative defense mechanism in shoots and roots of five wheat genotypes under high temperature stress, *Plant Growth Regul.* 60 (2010) 13–25
- **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
- **Gupta P, Chandra P., 1996.** Response of cadmium to *Ceratophyllum demersum* L., a rootless submerged plant. *Waste Manag* 16:335– 337. doi:10.1016/S0956-053X(96)00053-0
- **Gustavson, Kim, Wánobero, Sten-aroe., 1995.** Tolerance induction and succession in microalgae communities exposed to copper and atrazine. *Aquatic Toxicology*. 32: 283-302.
- **Gyuris J, E Golemis, H Chertkov and R Brent., 1993.** "Cdi1, a human G1 and S phase protein phosphatase that associates with Cdk2." *Cell* 75(4): 791-803.

Références Bibliographiques

- **Habig L., 1974.** J. Biol. Chem. 249: 7130-7139. Hagemeyer J, Breckle SW (1996). Growth under trace element stress, in : A. Eshel, U.Kafkafi (Eds.), Plant Roots: the Hidden Half. New
- **Hall C., Edgington L.V., Switzer C.M., 1982-** Translocation of different 2,4-D, bentazon, diclofop, or diclofop-methyl combinations in oat (*Avena sativa*) and soybean (*Glycine max*). *Weed Science*, 30, 676-682.
- **Halliwell B., 2006.** "Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life." *Plant Physiology* 141(2): 312-322.
- **Halliwell B and M Whiteman., 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.
- **Hare P.D., Cress W.A., 1997.** Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant cell and environment*. 21: 535 - 553.
- **Hare, P.D., and Cress, W.A., 1997.** Metabolism implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regul.* 21, 79–102.
- **Harrieche, O., 2004.** Impact du cadmium et de l'interaction cadmium-calcium sur la germination et la croissance du blé dur (*Triticum durum* Desf., variété Vitron). Effets sur la respiration des racines. *Mémoire de Magistère. Université d'Annaba.* 79p.
- **Hatzios K.K., Burgos N., 2004.** Metabolism-based herbicide resistance: regulation by safeners. *Weed Science*, 52, 454-467.
- **Heap I.M., 2007** .International survey of herbicide resistant weeds [WWW document]. URL
- **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.

Références Bibliographiques

- **Hiner, A.N., Raven, E.L., Thorneley, R.N., Garcia-Canovas, F., and Rodriguez-Lopez, J.N., 2002** .Mechanisms of compound I formation in heme peroxidases. *J Inorg Biochem*, 91(1), 27-34.
- **Hippeli S, I Heiser and EF Elstner ., 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.
- **Hillman, W.S., 1961**. The Lemnaceae, or duckweeds. A review of the descriptive and experimental literature. *Biological Reviews*, 27, 221-287. Landolt, E. (1986). The Family of Lemnaceae - A Monographic Study, Volume 1. Veroffentlichungen Des Geobotanischen Instituttes ETH, Stiftung Rubel, Zurich 71.
- **Holden,M., 1975** .Chlorophylls I,chemistry and biochemistry of plant pigments.2 éme edition.T.W.Goodwin.Academic press Edition.New York.pp.1-37
- **Hopkin, S.P., 1990**. Critical Concentrations, pathways of detoxification and cellular ecotoxicology of metals in terrestrial Arthropods. *Funct. Ecol* , 4, 321-327.
- **Horemans N, C H. Foyer, G Potters and H Asard ., 2000**. "Ascorbate function and associated transport systems in plants." *Plant Physiology and Biochemistry* 38(7-8): 531-540.
- **Hou W, Chen X, Song G, Wang Q, Chang CC., 2007**. Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiol Biochem* 2007;45:62-9.
- **Howe GA and AL Schillmiller., 2002**. "Oxylipin metabolism in response to stress." *Current Opinion in Plant Biology* 5(3): 230-236.
- **Hutchinson G.E., 1975**. A treatise on limnology. Vol. 3, Limnological botany. Wiley-Interscience, New York, 660 p.
- **Inze D and MV Montagu ., 2001**. Oxidative Stress in Plants, CRC
- **ISO (Organisation Internationale de Normalisation), Water Quality., 2001**. Determination of the toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*). Duckweed growth inhibition test, ISO TC 147/SC 5 N, ISO/CD 20079.
- **Israr M, Sahi SV., 2006**. Antioxidative responses to mercury in the cell cultures of *Sesbania drummondii*. *Plant Physiol. Biochem.* 44:590- 595.
- **Jasieniuk M., Brule-Babel A.L., Morrison I.N., 1996**. The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. *Weed Science*, 44, 176-193.

Références Bibliographiques

- **Jenner, H.A., and Janssen-Mommen, J.P.M., 1989.** "Control of zebra mussels in power plants and industrial settings," Proceedings of the Second International Zebra Mussel Conference, Rochester, N.Y. November 28-29, 1989. New York Sea Grant Extension and the U.S. Fish and Wildlife Service.
- **Joo JH, YS Bae and JS Lee., 2001.** "Role of Auxin-Induced Reactive Oxygen Species in Root Gravitropism." *Plant Physiology* 126(3): 1055-1060.
- **Kähkönen MA, Manninen PKG., 1998.** The uptake of nickel and chromium from water by *Elodea canadensis* at different nickel and chromium exposure levels. *Chemosphere* 36, 1381-1390.
- **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.
- **Kelly J.M., Parker G.R. et 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.
- **Keren-Keiserman A, Z Tanami, O Shoseyov et I Ginzberg., 2004.** "Peroxidase activity associated with suberization processes of the muskmelon (*Cucumis melo*) rind." *Physiologia Plantarum* 121(1): 141-148.
- **Kiss, S.A., Varga, I.S., Galbacs, Z., Maria, T.H., Csikkel-Szolnoki, A., 2003.** Effect of age and magnesium supply on the free radical and antioxidant content of plants. *Acta Biologica Szegediensis*, Vol.47 (1-4), pp, 127-130.
- **Kloskowski, H., 1992.** Plant availability of bound anilazine residues in a degraded loess soil. *J. Environ. Scien. Health*. 6. pp. 487 – 505.
- **Kramell R, O Miersch, R Atzorn, B Parthier et C Wasternack., 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.
- **Krause G.H., Weis E., 1991.** Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Ann. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* (42): 313 -349.
- **Kubis .J., 2008.** Exogenous spermidine differentially alters activities of some scavenging system enzymes, H₂O₂ and superoxide radical levels in waterstressed cucumber leaves, *J. Plant Physiol.* 165 (2008) 397–406.

Références Bibliographiques

- **Kuciel, R., Mazurkiewicz, A., 2004.** Formation and Detoxification of reactive oxygen species. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, Vol.323, pp, 183-186.
- **Kuznetsov VV, and Shevyakova NI., 1997.** Stress responses of tobacco cells to high temperature and salinity. Proline accumulation and phosphorylation of polypeptides. *Physiologia Plantarum* 100: 320–326.
- **Laloi C, K Apel and A Danon., 2004.** "Reactive oxygen signalling: the latest news." *Current Opinion in Plant Biology* 7(3): 323-328.
- **Landrum, P.F., Harkey, G.A., Kukkonen, J., 1996.** Evaluation of organic contaminant exposure in aquatic organisms: the significance of bioconcentration and bioaccumulation. In *Ecotoxicology: a Hierarchical Treatment* .Lewis, Boca Raton, 85-131.
- **Langebartels C, H Wohlgemuth, S Kschieschan, S Grün and H Sandermann ., 2002.** "Oxidative burst and cell death in ozone-exposed plants." *Plant Physiology and Biochemistry* 40(6-8): 567-575.
- **Lanno, R.P., Leblanc, S.C., Knight, B.L., Tymowski, R., Fitzgerald, D.G., 1998.** Application of body residues as a tool in the assessment of soil toxicity. *Earthworm Ecotoxicology*, 41-53.
- **Laure Geoffroy, Cécile Frankart, Philippe Eullaffroy., 2004** .Comparison of different physiological parameter responses in *Lemna minor* and *Scenedesmus obliquus* exposed to herbicide flumioxazin. see front matter _ 2004 Elsevier Ltd. All rights reserved. doi:10.1016/j.envpol.2004.02.021.
- **Lavid, N., Schwartz, A., Yarden, O., Tel-Or, E., 2001.** The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of waterlily (*Nymphaeaceae*). *Planta* 212, 323–331.
- **Leita, L.,Contin, M.,maggioni, A., 1991:** Distribution of cadmium and induced Cd-binding proteins in roots, stems and leaves of *Phaseolus vulgaris*, *plant science*, 77:139-147
- **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.

Références Bibliographiques

- **Levigneron A., Lopez F., Varisuyt G., Berthomien P., Casse-Delbar T., 1995.** Les plantes face au stress salin. Cahier d'Agriculture. 4 : 263-273.
- **Levine A, R Tenhaken, R Dixon and C Lamb (1994).** "H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response." *Cell* 79(4): 583-593.
- **Li Z., Alfenito M., Rea P.A., Walbot V., Dixon R.A., 1997-** Vacuolar uptake of the phytoalexin medicarpin by the glutathione conjugate pump. *Phytochemistry*, 45, 689-693.
- **Liavonchanka A and I Feussner ., 2006.** "Lipoxygenases: Occurrence, functions and catalysis." *Journal of Plant Physiology* 163(3): 348-357.
- **Lidia, B., Vysotskaya, N., Tatyana, N., Leila, Timergalina, V., Aleksandr, Dedov, YU., and Stanislqv., 2004.** Effect of partial root excision on transpiration, root hydrolic conductance and leaf growth in wheat seedlings. *Plant Physiologie and Biochemistry I* 42(3): 251-255.
- **Lluch-Belda, D., M. J. Arvizu, S. Hernández-Vázquez, D. Lluch-Cota, A. C. Z. Salinas, T. Baugartner, G. Hammann, V. A. Cota, C. E. Coteró, F. W. García, O. Pedrín, S. M. Lizárraga, M. A. Martínez, R. Morales, M. O. Nevárez M., J. P. Santos M., R. Ochoa B., S. R. Rodríguez, J. R. Torres V., and F. Páez B., 1995.** Atlas Pesquero de México. Pesquerías Relevantes. Secretaría de Pesca/Instituto Nacional de la Pesca/Universidad de Colima (Cenedic). México. 310 pp.
- **Lockert, c., K., Hoagland, K., D., Siegfried, B., D., 2006.** Comparative sensitivity of freshwater algae to atrazine. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 76: 73 79.
- **Loesch, R., Kohl, K.I., 1999.** Plant respiration under the influence of heavy metals. In: Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J. (Eds.), *Heavy Metal Stress in Plants – From Molecules to Ecosystems*. Springer, Berlin, pp. 139–156.
- **Low PS and JR Merida., 1996.** "The oxidative burst in plant defense: Function and signal
- **Lürling, Miquel, Roessink., 2006.** On the way to cyanobacterial blooms: Implct of the herbicide metribuzin on the competition between a green alga (*Scenedesmus*) and a cyanobacterium (*Microcystis*). *Chemosphere*. 65: 618-626.

Références Bibliographiques

- **Lynch MP, C Faustman, LK Silbart, D Rood and HC Furr ., 2001.** "Detection of Lipid-Derived Aldehydes and Aldehyde:Protein Adducts In Vitro and in Beef." *Journal of Food Science* 66(8): 1093-1099.
- **Maria G. Maleva, Galina F. Nekrasova , Przemysław Malec , M.N.V. Prasad , Kazimierz Strzałka ., 2009.** Ecophysiological tolerance of *Elodea canadensis* to nickel exposure _ 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved. doi:10.1016/j. chemosphere. 77 (2009) 392–398
- **Marrs K.A., Alfenito M.R., Lloyd A.M., Walbot V., 1995.** A glutathione S-transferase involved in vacuolar transfer encoded by the maize gene *Bronze-2*. *Nature* (London), 375, 397-400.
- **Martinoia E., Klein M., Geisler M., Bovet L., Forestier C., Kolukisaoglu U., Muller-Rober B., Schulz B., 2002-** Multifunctionality of plant ABC transporters - more than just detoxifiers. *Planta*, 214, 345-355.
- **Maury-Brachet E, Ribeyre F, Boudou A., 1990.** Actions and interactions of temperature and photoperiod on mercury accumulation by *Elodea densa* from sediment source. *Ecotox Environ Safe* 20, 141-155.
- **May M, T Vernoux, C Leaver, M Van Montagu and D Inze ., 1998.** "Review article. Glutathione homeostasis in plants: implications for environmental sensing and plant development." *Journal of Experimental Botany* 49(321): 649-667.
- **Mc Carty, L.S., Mackay, D., 1993.** Enhancing ecotoxicological modeling and assessment: body residues and modes of toxic action. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 1719-1728.
- **McFadden J.J., Frear D.S., Mansager E.R., 1989.** Aryl hydroxylation of diclofop by a cytochrome P450 dependent monooxygenase from wheat. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 34, 92-100.
- **Meagher RB., 2000.** Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Curr Opin Plant Biol* 3, 153-162.
- **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.

Références Bibliographiques

- **Mehta, S.K., and Gaur, J.P., 1999.** Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytol.* 143, 253–259. CrossRef
- **Meksem, L., 2007.** Etude des effets de deux fongicides : le Flamenco SC et le TILIT 250 EC sur la physiologie, la croissance et le métabolisme énergétique des racines de *Triticum durum* DESF : variétés GTA et VITRON. Thèse de Doctorat d'état. Université Badji Mokhtar Annaba.
- **Meksem, L, Rouabhi, R, Djebbar-Berrebah, H. and Djebbar, M. R., 2007.** The impact of propiconazole (Tilt 250 EC) on the growth and the breathing of hard wheat isolated roots (*Triticum durum*, *GTA* and *Vitron* varieties). *African Journal of Agricultural Research* Vol. 2 (8), pp. 370-373
- **Meyer A and R Hell., 2005 .** "Glutathione homeostasis and redox-regulation by sulfhydryl groups." *Photosynthesis Research* 86(3): 435-457.
- **Mika A, F Minibayeva, R Beckett and S Lüthje ., 2004.** "Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species." *Phytochemistry Reviews* 3(1): 173-193.
- **Miquel. S., 2001.** Les effets des métaux lourds sur l'environnement et santé- rapport de l'office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, France.
- **Mitchell D.S., 1974.** Aquatic vegetation and its use and control. UNESCO, Paris, 135 p.
- **Mitsou K, Koulianou A, Lambropoulou D, Pappas P, Albanis T, Lekka M., 2006.** Growth rate effects, responses of antioxidant enzymes and metabolic fate of the herbicide Propanil in the aquatic plant *Lemna minor*. *Chemosphere* 62, 275-284.
- **Mitsou, K., Koulianou, A., Lambropoulou, D., Pappas, P., Albanis, T., Lekka, M., 2006.** Growth rate effects, responses of antioxidant enzymes and metabolic fate of the herbicide Propanil in the aquatic plant *Lemna minor*. *Chemosphere* 62, 275–284.
- **Mittler. R., 2002.** "Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance." *Trends in Plant Science* 7(9):405-410
- **Mittler R, S Vanderauwera, M Gollery and F Van Breusegem ., 2004.** "Reactive oxygen gene network of plants." *Trends in Plant Science* 9(10): 490-498.
- **Mittler, R., 2002.** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405–410.

Références Bibliographiques

- **Mohan BS, Hosetti BB .,1997.** Potential phytotoxicity of lead and cadmium to Lemna minor grown in sewage stabilization ponds. Environ Pollut 9:233–238
- **Mohapatra .S, R. Minocha, S. Long, S.C., 2009.** Minocha, Putrescine overproduction negatively impacts the oxidative state of poplar cells in culture, Plant Physiol. Biochem. 47 (2009) 262–271
- **Moldes, D ., Diaz, M ., Tzanov ,T ., and Vidal , T ., 2008.** Comparative study of the efficiency of synthetic and natural mediators in laccase-assisted bleaching of eucalyptus kraft pulp , « Bioresource Technol. 99(17), 7959-7965.
- **Moller SG and MJ McPherson., 1998.** "Developmental expression and biochemical analysis of the *Arabidopsis* atao1 gene encoding an H₂O₂-generating diamine oxidase." The Plant Journal 13(6): 781-791.
- **Monneveux P.H, Nemmar M., 1989.** 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).
- **Montillet J-L, S Chamnongpol, C Rusterucci, J Dat, B van de Cotte, J-P Agnel, C Battesti, D Inze, F Van Breusegem and C Triantaphylides., 2005.** "Fatty Acid Hydroperoxides and H₂O₂ in the Execution of Hypersensitive Cell Death in Tobacco Leaves." Plant Physiology 138(3): 1516-1526.
- **Mueller MJ., 2004.** "Archetype signals in plants: the phytoprostanes." Current Opinion in Plant Biology 7(4): 441-448.
- **Muhittin Dogan, Saadet Demirors Saygideger , Ugur Colak ., 2009.** Effect of Lead Toxicity on Aquatic Macrophyte *Elodea canadensis* Michx. _ Springer Science+Business Media, LLC Bull Environ Contam Toxicol (2009) 83:249–254
- **Müller, S., 2001.** *Elodea canadensis*, *Elodea nuttallii*, *Elodea callitrichoides*. Les invasions biologiques causées par les plantes exotiques sur le territoire français métropolitain. Etat des connaissances et propositions d'actions, pp: 68.
- **Mullineaux PM, S Karpinski, A Jimenez, SP Cleary, C Robinson and GP Creissen., 1998.** "Identification of cDNAs encoding plastid-targeted glutathione peroxidase." The Plant Journal 13(3): 375-379.
- **Nakano, Y. and K. Azada., 1987.** Purification of Naturforsch, 54c: 730-734.

Références Bibliographiques

- **Navas P, J Villalba and F Córdoba., 1994.** "Ascorbate function at the plasma membrane." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes* 1197(1): 1-13.
- **Navrot N, V Collin, J Gualberto, E Gelhaye, M Hirasawa, P Rey, DB Knaff, E Issakidis, J-P Jacquot and N Rouhier ., 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.
- **Newmaster, S., A. Harris and L. Kershaw., 1997.** *Wetland Plants of Ontario*. Lone Pine Publishing, Edmonton, Alberta. 240 pp.
- **Niyogi K ., 1999.** "Photoprotection revisited: Genetic and Molecular Approaches." *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50(1): 333-359.
- **Noctor G, A Arisi, L Jouanin, K Kunert, H Rennenberg and C Foyer., 1998.** "Review article. Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in
- **Noctor G, R De Paepe and CH Foyer., 2007.** "Mitochondrial redox biology and homeostasis in plants." *Trends in Plant Science* 12(3): 125-134.
- **Nyathi Y and A Baker., 2006).** "Plant peroxisomes as a source of signalling molecules." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1763(12): 1478-1495.
- **Ober, E. S., and R. E. Sharp., 1994.** Proline accumulation in maize (*Zea mays* L.) primary roots at low water potentials: requirement for increased levels of abscisic acid. *Plant Physiology* 105: 981–87.
- **Ohkawa, H., N .Ohishi and K. Yagi .,1979.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction *Anal. Biochem.* 95: 358.
- **Olette R, Couderchet M, Biagianti S, Eullaffroy P., 2008.** Toxicity and removal of pesticides by selected aquatic plants. *Chemosphere* 70, 1414-1421
- **Oncel, I.,Kkeles, y., Ustun, A;S., 2000.** interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some bio chemical compounds in wheat seedling. *environnemetal pollution* 107:325-320
- **Osmond C.B., 1994.** What is photo inhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. *BIOS. Scientific Publishers. Oxford* : 1-24.

Références Bibliographiques

- **Oturan, M., Mouchel, J-M., 2007**, *Pesticides : impacts environnementaux, gestion et traitements*, éditions Presses de l'école nationale des ponts et chaussées, 333pp
- **P. Maher., 2005** . The effects of stress and aging on glutathione metabolism, *Ageing Res. Rev.* 4 (2005) 288e314.
- **Panda S. K., 2003**. Heavy-metal phytotoxicity induces oxidative stress in a moss, *Taxithellium* sp. *Science*. 84(5), 10: 631-633.
- **Passardi F, C Penel and C Dunand ., 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 Rep.* 24, 255–265.
- **Pastori GM and CH Foyer., 2002**. "Common Components, Networks, and Pathways of Cross-Tolerance to Stress. The Central Role of "Redox" and Abscisic Acid-Mediated Controls." *Plant Physiology* 129(2): 460-468.
- **Pei Z-M, Y Murata, G Benning, S Thomine, B Klusener, GJ Allen, E Grill and JI Schroeder., 2000**. "Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells." *Nature* 406(6797): 731-734.
- **Peleg, S., Naor, J., Hartley, R., and Avnir, D., 1984**. "Multiple resolution texture analysis and classification," *IEEE Trans. Pattern Anal. Machine Intell.* 6(4), 518-52
- **Pena-Ahumada A, U Kahmann, K-J Dietz and M Baier ., 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.
- **Pignocchi C and CH Foyer ., 2003**. "Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signalling." *Current Opinion in Plant Biology* 6(4): 379-389.
- **Pignocchi C and CH Foyer ., 2003**. "Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signalling." *Current Opinion in Plant Biology* 6(4): 379-389.
- **Pilon-Smits E., 2005**. Phytoremediation, *Annu. Rev. Plant Biol.* 56 (2005) 15-39.
- **Pitzschke A, C Forzani and H Hirt ., 2006**. "Reactive oxygen species signaling in plants." *Antioxidant Redox Signal* 8(9-10): 1757-64.
- **Polessp., 2005**. <http://www.polessp.org/pdf/etudes/phyto.pdf> [12 mars 2005].

Références Bibliographiques

- **Potera, C., 2007**, *Pesticides disrupt nitrogen fixation*, Environmental health perspectives, 115,579
- **Potters G, L De Gara, H Asard and N Horemans., 2002**. "Ascorbate and glutathione: guardians of the cell cycle, partners in crime?" Plant Physiology and Biochemistry 40(6-8): 537-548.
- **Pourrut. B., 2008**. Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba* . DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE. Institut National Polytechnique de Toulouse. spécialité : Ecotoxicologie .297 p.
- **Prasad M. N. V., 1995**. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. Environmental and experimental botany, 35 (4) : 525-545.
- **Preston C., Powles S.B., 1998**. Amitrole inhibits diclofop metabolism and synergises diclofop-methyl in a diclofop-methyl-resistant biotype of *Lolium rigidum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 62, 179-189.
- **Radic S, Babic M, Skobic D, Roje V, Pevalek-Kozlina B., 2009**. Ecotoxicological effects of aluminum and zinc on growth and antioxidants in *Lemna minor* L. Ecotoxicology and Environmental Safety. 10 : 1-4.
- **Rand, G.M., 1995**. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Taylor & Francis, Washington.
- **Rappe, A., 1992**. *Pesticides et santé : les pesticides en balance*, édition association pharmaceutique belge
- **Razinger J, Dermastia M, Drinovec L, Drobne D, Zrimec A, Dolenc Koce J., 2007**. Antioxidative responses of duckweed (*Lemna minor* L.) to short-term copper exposure. Environ Sci Pollut Res 2007;14:194-201.
- **Reichenauer TG, Germida JJ., 2008**. Phytoremediation of organic contaminants in soil and groundwater. ChemSusChem 1, 708-717.
- **Rhoads DM, AL Umbach, CC Subbaiah and JN Siedow., 2006**. "Mitochondrial Reactive Oxygen Species. Contribution to Oxidative Stress and Interorganellar Signaling." Plant Physiology 141(2): 357-366.
- **Rice PJ, Anderson TA, Coats JR., 1997**. Phytoremediation of herbicide-contaminated surface water with aquatic plants. ACS Symposium Series 664, 133-151.
- **Rimer, P., 1993**. "Concentrations of lead in aquatic macrophytes from Shoal lake, Manitoba, Canada," Environmental Pollution, vol. 56, pp. 77-84.

Références Bibliographiques

- **Robert D. et Roland J.C., 1998.** Organisation cellulaire : Biologie végétale. Ed Doin, Vol.1, pp 125-345.
- **Rouhier N and J-P Jacquot ., 2002.** "Plant peroxiredoxins: alternative hydroperoxide scavenging enzymes." *Photosynthesis Research* 74(3): 259-268.
- **Roy, S., Hanninen, O., 1992.** Pentachlorophenol: uptake/elimination kinetics and metabolism in an aquatic plants, *Eichhornia crassipes*. *Environ. Toxicol. Chem.* 13, 763–773.
- **Roy, S., Inhatola, R., Hanninen, O., 1992.** Peroxidase activity in lake macrophytes and its relation to pollution tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 32, 457–464.
- **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.
- **Salder, B. S. & Cox, W. E., 1986.** La gestion des ressources en eau: le contexte socio-politique. *UNESCO, Nature et Ressources No. 3, vol XXII. Paris, France.*
- **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.
- **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.
- **Saygideger S, Dogan M ., 2004.** Lead and cadmium accumulation and toxicity in the presence of EDTA in *Lemna minor* L. and *Ceratophyllum demersum* L. *Bull Environ Contam Toxicol* 73:182–189. doi:10.1007/s00128-004-0411-3
- **Saygideger S, Dogan M, Keser G., 2004.** Effect of lead and pH on lead uptake, chlorophyll and nitrogen content of *Typha latifolia* L. and *Ceratophyllum demersum* L. *Int J Agri Biol* 6:168–172

Références Bibliographiques

- **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
- **Scandalios, J.G., 1993.** Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol.* 101.
- **Scandalios, J.G., 2002.** The rise of ROS. *Trends Biochem. Sci.* 27, 483–486.
- **Schnoor JL, Licht LA, McCutcheon SC, Wolfe NL, Carreira LH., 1995.** Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environ Sci Technol* 29, 318A-323A.
- **Schnoor JL, Licht LA, McCutcheon SC, Wolfe NL, Carreira LH., 1997.** Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environ Sci Technol* 29, 318A-323A.
- **Schröder P, Collins C., 2002.** Conjugating enzymes involved in xenobiotic metabolism of organic xenobiotics in plants. *Int J Phytorem* 4, 247-265.
- **Schröder P, Harvey PJ, Schwitzguébel JP., 2002.** Prospects for the phytoremediation of organic pollutants in Europe. *Environ Sci Pollut Res* 9, 1-3.
- **Schulze E-D, Beck E., Müller-Hohenstein K., 2005.** *Plant ecology.* Springer. Berlin: 117-143.
- **Schutzendubel A and A Polle ., 2002.** "Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization." *Journal of Experimental Botany* 53(372): 1351-1365.
- **Scoggan, H. J. 1978–1979.** *The flora of Canada*, 4 vol. (F Canada) .
- **Sculthorpe C.D., 1967.** *The biology of aquatic vascular plants. Edition Arnold*, London, 610 p.
- **Seguin, F., Leboulanger c., Rimet, F., Oruart, J., C., Bérard, A., 2001.** Effects of atrazine and nicosulfuron on phytoplankton in systems of increasing complexity. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology.* 40: 198-208.
- **Shah, K., and Dubey, R.S., 1998.** Effect of cadmium on proline accumulation and ribonuclease activity in rice seedlings: Role of proline as a possible enzyme protectant. *Biol. Plant.* 40, 121–130.
- **Shields, R. et Burnett, W., 1960.** Determination of protein bound carbohydrate in serum by a just modified anthrone method. *Anal. Chem.*, 32 : 885-886.

Références Bibliographiques

- **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 antioxydants. *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.
- **Singh S, Eapen S, D'Souza SF., 2006.** Cadmium accumulation and its influence on lipid peroxidation and antioxidative system in an aquatic plant, *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere* 2006;62:233-46.
- **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.
- **Slyter R., 1974.** The effect of internal water status on plant growth development and yield In : plant responses to climatic factors . Proc.of upsal simpisium, Unesco.
- **Smirnoff N ., 1998.** "Plant resistance to environmental stress." *Current Opinion in Biotechnology* 9(2):214-219.
- **Smirnoff N, C Foyer, K Dietz, R Mittler, J Feierabend, S Grace, R Desikan, M Jones, R Vreeburg, B Logan and P Jaspers., 2005.** Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants, Blackwell publishing. transformed plants." *Journal of Experimental Botany* 49(321): 623-647.
- **Spawn, Rebecca, L., Hoagland, Kyle, D., Siegfried, Blair, D., 1997.** Effects of aJachlor on an algal community from a midwestern agricultural stream. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16: 785-793.
- **Springer Verlay., 1990.** usage et polluants, Coord tome II INRA.
- **Stadtman ER and RL Levine., 2000.** "Protein Oxidation." *Annals of NY Academy of Science* 899(1): 191-208.
- **Stolt J. P., Sneller F. E. C., Bryngelsson T., Lundborg T. And Schat H., 2003.** Phytochelatin and Cadmium accumulation in wheat. *Environmental and experimental botany*, 49: 21-28.

Références Bibliographiques

- **Stratton, G., W., Huber, A., L., Corke, c., T., 1979.** Effect of mercuric ion on the growth, photosynthesis and nitrogenase activity of *Anabaena inaequalis*. *Applied Environmental Microbiology* 38 : 537.
- **Susarla S, Bacchus ST, Medina VF, Mccutcheon SC., 2002.** Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. *Ecol Eng* 18, 647-658.
- **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 (*Triticum durum*). *Bull. Inst. Sci., Rabat*, (21) : 81-87.
- **Taraldsen, J.E. and T.J. Norberg-King., 1990.** New method for determining effluent toxicity using duckweed (*Lemna minor*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 9: 761-7
- **Taylor, C.B., 1996.** Proline and water deficit: Ups, downs, ins and outs. *Plant Cell* 8, 1221-1224.
- **Tefiani valette., 2000.** L'eau, élément fondamental, p1-p20.
- **Teisseire, H., Vernet, G., 2000.** Is the "Diuron effect" due to a herbicide strengthening of antioxidative defenses of *Lemna minor*? *Pestic. Biochem. Phys.* 66, 153-160.
- **Teisseire, H., Vernet, G., 2001.** Effects of the fungicide on the activities of antioxidative enzymes in duckweed (*Lemna minor*). *Pestic. Biochem. Physiol.* 69, 112-117.
- **Theodoulou F.L., 2000.** Plant ABC transporters. *Biochimica et Biophysica Acta, Biomembranes*, 1465, 79-103.
- **Thomazeau. R ., 1981 .**Station d'épuration eaux potables - eaux usées, Précis théorique et technologique, Tec et Doc Paris Edition LAVOISIER.
- **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.
- **Tkalec M, Prebeg T, Roje V, Pevalek-Kozlina B, Ljubešić N., 2008.** Cadmium-induced responses in duckweed *Lemna minor* L. *Acta Physiol Plant* 2008;30:881-90. transduction." *Physiologia Plantarum* 96(3): 533-542.
- **Troll and J. Lindsley., 1955.** A photometric method for the determination of proline; *J.Biochem*: 655-660.

Références Bibliographiques

- **Tront JM, Saunders FM., 2006.** Role of plant activity and contaminant speciation in aquatic plant assimilation of 2,4,5-trichlorophenol. *Chemosphere* 64, 400-407.
- **Ursini F, M Maiorino, R Brigelius-Flohé, K Aumann, A Roveri, D Schomburg and L Flohé ., 1995.** " Diversity of glutathione peroxidases." *Methods in Enzymology* 252: 38-53.
- **Van Breusegem F, E Vranova, JF Dat and D Inze ., 2001.** "The role of active oxygen species in plant signal transduction." *Plant Science* 161(3): 405-414.
- **Van Straalen, N.M., 1996.** Critical body concentrations: their use in bioindication. In *Bioindicator Systems for Soil Pollution* Kluwer Academic, Amsterdam, 5-16 .
- **Viégas, r.a.; Melo, a.r.b. & Silveira, j.a.g ., 1999.** Nitrate reductase activity and proline accumulation in cashew (*Anacardium occidentale* L.) in response to salt (NaCl) shock. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 11(1): 21-28,
- **Vranova E, D Inze and F Van Breusegem ., 2002.** "Signal transduction during oxidative stress." *Journal of Experimental Botany* 53(372): 1227-1236.
- **W. Yu, R. Zhang, R. Li, S. Guo., 2007.** Isolation and characterization of glyphosaterregulated genes in soybean seedlings, *Plant Sci.* 172 (2007) 497–504
- **W.M. Huang, W. Xing, D.H. Li, Y.D. Liu., 2008.** The role of glutathione metabolism in tolerance of tobacco BY-2 suspension cells to microcystin-RR, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 80 (2008) 215e219.
- **Wang, W., 1991.** Literature review on higher plants for toxicity testing. *Water Air Soil Pollut.*, 59: 381–400
- **Weber H, A Chetelat, P Reymond and EE Farmer., 2004.** "Selective and powerful stress gene expression in *Arabidopsis* in response to malondialdehyde." *The Plant Journal* 37: 877-888.
- **Weckbecker G, Cory JG., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L 1210 cells in vitro. *Cancer Lett.*, 40: 257-264.
- **Werck-Reichhart D., Hehn A., Didierjean L., 2000.** Cytochromes P450 for engineering herbicide tolerance. *Trends in Plant Science*, 5, 116-123.
- **Willian Rodrigues Macedo a, Paulo Roberto de Camargo e Castro., 2011** Thiamethoxam: Molecule moderator of growth, metabolism and production of spring wheat 299–304

Références Bibliographiques

- **Wingler A, P Lea, W Quick and R Leegood ., 2000.** "Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 355(1402): 1517-1529.
- **Wojtaszek P., 1997.** "Oxidative burst : an early plant response to pathogen infection." *Biochem Journal* 322(3): 681-692.
- **Wollgieh, R., Newmann, D., 1995.** Stress response of tomato cell cultures to toxic-metals and heat shock: differences and similarities. *J. Plant Physiol.* 146: 736-742.
- **Wong CM, AK Cheema, L Zhang and YJ Suzuki ., 2008.** "Protein Carbonylation as a Novel Mechanism in Redox Signaling." *Circulation Research* 102(3): 310-318.
- **Wormuth D, I Heiber, J Shaikali, A Kandlbinder, M Baier and K-J Dietz ., 2007.** "Redox regulation and antioxidative defence in *Arabidopsis* leaves viewed from a systems biology perspective." *Journal of Biotechnology* 129(2): 229-248.
- **Worthing, C.R. et S.B. Walker, dir., 1983.** The pesti cide manual: compendium. 7 éd.TheBritish Crop Protection Council,Croydon, GB.
- **Xu Gu, Yuele Lu., Peng Wang., Ziheng Dang., Zhiqiang Zhou., 2010.** Enantioselective degradation of diclofop-methyl in cole (*Brassica chinensis* L.) food chemistry 121 :264-267
- **Xue T., Hartikainen H., Piironen V., 2001.** Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant Oil* 237. 55–61.
- **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. Sérié A.* 40: 327 -330.
- **Yoda. H, K. Fujimura, H. Tkahashi, I. Munrmura, H. Uchimija, H. Sano., 2009** .Polyamines as a common source of hydrogen peroxide in host- and nonhost hypersensitive response during pathogen infection, *Plant. Mol. Biol.* 70 103–112.
- **Yuan J.S., Tranel P.J., Stewart C.N., 2007.** Non-target-site herbicide resistance: a family business. *TRENDS in Plant Science*, 12, 6-13.
- **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, J Weng, J Pan, T Tu, S Yao and C Xu ., 2003.** "Study on the photo-generation of superoxide radicals in Photosystem II with EPR spin trapping techniques." *Photosynthesis Research* 75(1): 41-48.

Références Bibliographiques

- **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.